



Università di Pisa

DIPARTIMENTO DI SCIENZE VETERINARIE

Corso di Laurea in Medicina Veterinaria

TESI DI LAUREA MAGISTRALE

**La valutazione colorimetrica del
riflesso fotomotore come ausilio
diagnostico nella visita oculistica del
cane con deficit visivo**

Relatore

Dott. Giovanni Barsotti

Candidata

Virginia Briganti

Correlatore

Dott.ssa Angela Briganti

Anno Accademico 2015-2016

A Massimo, l'Amore della mia vita

*Daltonici, presbiti, mendicanti di vista
il mercante di luce, il vostro oculista,
ora vuole soltanto clienti speciali
che non sanno che farne di occhi normali.*

*Non più ottico ma spacciatore di lenti
per improvvisare occhi contenti,
perché le pupille abituate a copiare
inventino i mondi sui quali guardare.
Seguite con me questi occhi sognare,
fuggire dall'orbita e non voler ritornare.*

*“Vedo i fiumi dentro le mie vene,
cercano il loro mare, rompono gli argini,
trovano cieli da fotografare.
Sangue che scorre senza fantasia
porta tumori di malinconia!”*

*“Vedo gli amici ancora sulla strada,
loro non hanno fretta,
rubano ancora al sonno l'allegria,
all'alba un po' di notte: e poi la luce,
luce che trasforma il mondo in un giocattolo...”*

*Faremo gli occhiali così!
Faremo gli occhiali così!*

Abstract

Lo scopo del lavoro è stato di analizzare l'efficienza diagnostica della valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore, tramite l'utilizzo dell'apparecchio *Melan-100®*, per l'introduzione della stessa come test di *screening* nella visita oculistica del cane con deficit visivo. L'indagine è stata svolta su una popolazione campione di 94 cani con deficit visivo e 4 cani con funzione visiva normale, valutati in modo retrospettivo nell'arco di 31 mesi. La valutazione è stata utilizzata per la diagnosi di nove patologie oculari, elencate di seguito in ordine decrescente di frequenza: PRA, cataratta, SARDS, neuropatie del nervo ottico, alterazioni delle vie ottiche, distacco retinico, oftalmoplegia, anomalie congenite, glaucoma. Nei pazienti in cui è stato possibile formulare una diagnosi definitiva (77,7%), la valutazione colorimetrica ha mostrato buoni parametri di sensibilità e specificità diagnostiche, rispettivamente 96% e 80%. La valutazione colorimetrica del PLR, associata alla visita oftalmologica completa, può rappresentare il primo *step* diagnostico in corso di patologie causa di deficit visivo, ma non permette una diagnosi differenziale certa tra le diverse patologie di ordine oftalmologico e neurologico, per la quale si rendono spesso necessari ulteriori approfondimenti, come la visita specialistica neurologica, la Risonanza Magnetica (RMN) e la Elettroretinografia (ERG).

Parole chiave: cane, neurooftalmologia, valutazione colorimetrica del PLR, deficit visivo, retinopatie.

The aim of this study was to analyze the diagnostic efficiency of the colorimetric pupillary light reflex, through the Melan-100® device, in order to introduce it as a screening test in the eye examination of the dog with a visual deficit. The survey was conducted on a sample population of 94 dogs with visual deficit and of 4 dogs with normal visual function, selected during 31 months. Nine ocular diseases were diagnosed in the study period.; they were: PRA, cataract, SARDS, optic neuropathies, visual pathways diseases, retinal detachment, ophthalmoplegia, congenital anomalies, glaucoma. In animal patients where we could make a definitive diagnosis (77.7%), the PLR colorimetric evaluation showed good diagnostic sensitivity and specificity values, respectively, 96% and 80%. The PLR colorimetric evaluation, associated with a complete eye examination, may represent the first diagnostic step in dogs suffering from visual loss, but it does not allow in some cases a reliable differential diagnosis ophthalmological and neurological diseases. In these cases, neurological examination, Magnetic Resonance Imaging (MRI) and Electroretinography (ERG) are always necessary.

Key words: dog, neurophthalmology, colorimetric pupillary light reflex, visual deficit, retinal diseases.

Indice

PARTE GENERALE.....	
CAPITOLO I.....	2
<i>Anatomia funzionale di iride, retina e vie ottiche.....</i>	<i>2</i>
Iride e Pupilla.....	2
Retina.....	7
Nervo ottico.....	15
CAPITOLO II.....	19
<i>La formazione dell'immagine: dalla retina alla corteccia visiva.....</i>	<i>19</i>
Dalla retina alla <i>Cortex Visiva</i>	30
CAPITOLO III.....	34
<i>Il Riflesso Fotomotore.....</i>	<i>34</i>
La visita neuroftalmologica di base.....	34
Riflesso Pupillare Fotomotore.....	39
Valutazione colorimetrica del PLR.....	44
Elettroretinografia.....	47
CAPITOLO IV.....	54
<i>Le principali patologie oculari responsabili di alterazione del PLR.....</i>	<i>54</i>
Degenerazione Retinica Ereditaria.....	58
Retiniti e Corioretiniti.....	62
SARDs.....	66
Glaucoma.....	71
Cataratta.....	79
CAPITOLO V.....	83
<i>Le principali patologie extra oculari responsabili di alterazione del PLR</i>	<i>83</i>
.....	<i>83</i>

Neuropatie del nervo ottico, meningiti e neoplasie comprimenti il nervo ottico.....	84
Alterazioni delle vie ottiche	88
Oftalmoplegia	91
APPLICAZIONE CLINICA DELLA VALUTAZIONE COLORIMETRICA DEL PLR NELL'OFTALMOLOGIA DEL CANE.....	
Introduzione.....	98
CAPITOLO VI	100
<i>Materiali e metodi</i>	100
CAPITOLO VII.....	110
<i>Risultati</i>	110
CAPITOLO VIII	125
<i>Discussioni</i>	125
CAPITOLO IX	141
<i>Conclusioni</i>	141
RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI.....	145

PARTE GENERALE

Capitolo I

Anatomia funzionale di iride, retina e vie ottiche

Iride e Pupilla

L'uvea è la tunica vascolare dell'occhio ed è formata da tre componenti principali: l'iride, il corpo ciliare e la coroide (Shively & Epling, 1969). L'iride è un diaframma, perpendicolare all'asse visivo, che divide il comparto anteriore dell'occhio in una camera anteriore e una posteriore, comunicanti tra loro tramite la *pupilla*. Si estende verso il centro dell'occhio a partire dal corpo ciliare, coprendo anteriormente la regione del cristallino tranne a livello della pupilla, che rappresenta un'apertura centrale. Nelle diverse specie, la forma del foro pupillare varia notevolmente; per quanto riguarda i mammiferi, esso appare circolare nei primati, nel cane, nei grandi felini e nel suino, ogivale e verticale nei piccoli felini (tra i quali, il gatto domestico), ovale e orizzontale negli erbivori. L'iride può essere suddivisa in una *zona*

centrale pupillare e una *zona ciliare periferica*, la linea di confine tra queste due aree è detta *collaretto*, osservabile più facilmente quando la pupilla è moderatamente dilatata (Gelatt *et al.*, 2013).

Contraendosi e dilatandosi, l'iride controlla la quantità di luce che attraversa il segmento posteriore dell'occhio, tramite l'apertura del foro pupillare: quando l'iride si contrae, l'apertura del foro pupillare si riduce (**miosi**), limitando l'ingresso della luce nel comparto posteriore. Oltre a una funzione di protezione retinica nei confronti di stimolazioni luminose troppo intense, contribuisce a una migliore percezione delle immagini, garantendo un aumento della profondità di fuoco del cristallino e bloccando i raggi di luce dal penetrare nelle porzioni più periferiche della lente, dove i raggi stessi sarebbero rifratti, dando origine a fastidiosi fenomeni di aberrazione cromatica. In condizioni ambientali di scarsa luminosità, al contrario, l'iride si dilata provocando una più ampia apertura del foro pupillare: **midriasi**. La midriasi consente al maggior numero di fotoni presenti di raggiungere la retina per la stimolazione fotorecettoriale, in particolar modo dei bastoncelli (Gelatt *et al.*, 2013).

Istologicamente, l'iride si suddivide in tre settori. L'endotelio riveste la faccia anteriore e presenta numerose depressioni o *cripte*. Posteriormente lo stroma, il quale rappresenta la porzione più voluminosa, è costituito da

tessuto connettivo fibrillare e dal muscolo sfintere della pupilla. Infine lo strato epiteliale posteriore presenta uno strato interno —costituito da cellule pigmentate— e uno strato esterno, caratterizzato da cellule mioepiteliali organizzate a formare il muscolo dilatatore della pupilla (Donovan *et al.*, 1974a).

Il colore dell'iride varia nelle diverse specie, tra le razze e da un individuo all'altro (perfino nello stesso individuo, in base all'età) e dipende dal tipo di pigmentazione delle cellule stromali; le diverse sfumature del colore primario dipendono, invece, dalla quantità di pigmento presente e dal grado di vascolarizzazione. Negli animali domestici i colori dell'iride variano dal marrone scuro al castano dorato, blu, blu-verde e oro (Gelatt *et al.*, 2013).

Come già accennato, il **muscolo sfintere dell'iride** si trova nella porzione stromale e circonda la pupilla; nei mammiferi è rappresentato da fasci piatti e sottili di fibre muscolari lisce, mentre è costituito da fibre muscolari striate nelle altre specie. Nel cane e nel gatto giace nella porzione posteriore dello stroma, separato dall'epitelio pigmentato e dal muscolo dilatatore da un sottile strato di tessuto connettivo. La forma del muscolo sfintere varia in base alla specie, adattandosi alle diverse tipologie di foro pupillare (Prince, 1956). Il **muscolo dilatatore dell'iride** si trova nello strato più interno e si estende dai margini pupillari alla periferia dell'iride stessa. È formato da un

singolo strato di fibre muscolari lisce, le quali contengono pigmento perinucleare. Questo muscolo può essere considerato una particolare evoluzione di tessuto mioepiteliale pigmentato, in quanto le porzioni basali delle cellule che lo compongono —contenenti i miofilamenti— contraggono intimi rapporti di sovrapposizione, come se si trattasse di un unico elemento cellulare. Le dimensioni del muscolo dilatatore variano nell'ambito delle specie: nel cane il muscolo trova un notevole sviluppo e interessa l'intera circonferenza dell'iride (Prince *et al.*, 1960).

Il grado di apertura del margine pupillare dipende dall'azione combinata di questi due muscoli; il muscolo sfintere dell'iride, il più potente dei due, è sottoposto al controllo del sistema parasimpatico, è innervato dal nervo oculomotore (III paio di nervi cranici) e la sua contrazione determina miosi. Il muscolo dilatatore dell'iride, responsabile della midriasi, è innervato principalmente dal sistema nervoso simpatico, tramite una combinazione di recettori α -adrenergici (α_1 e α_2) e β -adrenergici (β_1 e β_2) (Yoshitomi & Yushi, 1986).

Nelle specie animali domestiche, l'occhio e l'orbita ricevono la maggior parte dell'apporto sanguigno dall'arteria mascellare interna, branca dell'arteria carotide esterna, che a sua volta si dirama dando forma all'**arteria oftalmica esterna** (Prince *et al.*, 1960). È questa a provvedere

principalmente alla circolazione dell'occhio e da essa derivano le arterie ciliari posteriori (lunghe e brevi), l'arteria lacrimale e l'arteria sopraorbitale.

L'iride è irrorata dalle **arterie ciliari posteriori lunghe**, mediale e laterale, che perifericamente sono organizzate a formare il *cerchio arterioso maggiore dell'iride* ; l'esatta localizzazione all'interno degli strati dell'iride di questo anello vascolare varia da individuo a individuo. Il cerchio arterioso maggiore non circonda completamente l'iride nelle specie domestiche (a differenza dei primati, in cui forma un anello completo) e da esso si diramano numerose arteriole, terminanti —nel cane e nel gatto— in un letto capillare adiacente al margine pupillare. Nella maggior parte degli animali, queste arteriole hanno un aspetto tortuoso e il grado di tortuosità riflette le differenze di mobilità pupillare tra una specie e un'altra; nel cane le anastomosi trasversali tra le arteriole sono poco sviluppate, pertanto non si considera, come in altre specie, la presenza di un *cerchio arterioso minore* (Anderson & Anderson, 1977). Il drenaggio venoso avviene a opera delle **vene vorticose**, confluenti nella *vena oftalmica*, di numero variabile nella specie canina (Van Buskirk, 1979; Risco & Nopanitaya, 1980).

Numerose fibre nervose mielinizzate e non mielinizzate giungono all'iride: sono i **nervi ciliari brevi** (rami del ganglio ciliare) e i **nervi ciliari lunghi** (rami del nervo oftalmico). Le fibre mielinizzate non seguono il decorso

vascolare, bensì l'architettura delle fibre collagene stromali. Entrando nell'iride, ogni nervo ciliare lungo si divide in una branca dorsale e una ventrale, le quali si congiungono alle fibre provenienti dal lato opposto formando un anello nervoso. Le fibre nervose, che si diramano radialmente da questo anello, attraversano centralmente la pupilla assumendo una conformazione "a cavatappi" (presumibilmente per assecondare i movimenti pupillari di restringimento e dilatazione). I nervi ciliari brevi formano un plesso circolare intorno al collaretto e da esso si diramano fibre che raggiungono la pupilla, dividendo l'iride in setti tramite reti di fibre nervose di forma romboidale (Saari, 1971).

Retina

La retina rappresenta la più interna delle tuniche che costituiscono la parete del bulbo oculare ed è connessa al cervello tramite il nervo ottico e i tratti ottici. La retina agisce come un organo di ricezione degli stimoli luminosi dall'ambiente esterno e li trasmette in modo accurato al cervello, il quale li interpreta elaborando la visualizzazione di un'immagine. Le cellule recettoriali specializzate —coni e bastoncelli— contengono, infatti, dei fotopigmenti che, se esposti alla luce, producono un segnale di tipo chimico. Questo segnale viene quindi convertito in uno stimolo di tipo elettrico e trasmesso alle cellule gangliari, i cui assoni formano lo strato di fibre

nervose che costituiscono il nervo ottico e, attraverso quest'ultimo, lo stimolo raggiunge la *cortex visiva* (Herron *et al.*, 1974).

Retina e nervo ottico derivano dal prosencefalo, pertanto morfologia e fisiologia rispecchiano quelle delle strutture cerebrali.

Istologicamente la retina è suddivisa in 10 differenti strati, dall'esterno verso l'interno (Gelatt *et al.*, 2013):

- Epitelio Retinico Pigmentato (ERP)
- Strato dei fotorecettori
- Membrana limitante esterna
- Strato dei granuli esterni
- Strato plessiforme esterno
- Strato dei granuli interni
- Strato plessiforme interno
- Strato delle cellule multipolari
- Strato delle fibre nervose
- Membrana limitante interna

L'**Epitelio Retinico Pigmentato (ERP)** rappresenta lo strato di maggior spessore della retina ed è costituito da un monostrato di cellule epiteliali poligonali piatte. La sua importanza risiede nel trasporto dei nutrienti dalla coriocapillare della coroide agli strati nervosi retinici; la retina è uno dei tessuti con il metabolismo più elevato, pertanto se una delle fonti di nutrimento viene interrotta, ad esempio in corso di ischemia, si può verificare rapidamente la perdita della funzione (Herron *et al.*, 1974). Ogni cellula che lo compone circonda, tramite dei processi citoplasmatici, i fotorecettori, con lo scopo di isolarli da fonti di luce troppo intense incrementandone, così, la sensibilità individuale. Le cellule dell'epitelio, infine, fagocitano i segmenti dei fotorecettori che subiscono un continuo *turn over*. Il nome di questo strato è dovuto all'intensa pigmentazione delle sue cellule, tuttavia esse risultano prive di pigmento in corrispondenza della coroide dorsale, sede del *tapetum lucidum*: l'assenza di melanina in questo punto consente il passaggio della luce attraverso l'ERP ed il raggiungimento del *tapetum*, dal quale essa viene riflessa nuovamente verso i fotorecettori. La morfologia e la disposizione dei melanosomi dell'ERP varia nelle diverse specie animali.

Lo **strato dei fotorecettori** è costituito principalmente da due tipi di cellule, i coni e i bastoncelli, che rappresentano le cellule visive primarie dell'occhio.

In realtà questo strato comprende solamente il *segmento esterno* — dei fotorecettori, mentre i nuclei di queste cellule sono localizzati nello strato dei granuli esterni. Il segmento esterno è caratterizzato da estroflessioni che ne aumentano la superficie, consentendo una maggiore concentrazione di pigmenti visivi. I bastoncelli funzionano al meglio in presenza di un'illuminazione debole o ridotta (*visione scotopica*), sono responsabili della delineazione delle figure e della captazione del movimento e sono inattivati da un'esposizione costante alla luce intensa. I coni, al contrario, sono efficienti in presenza di luce forte e brillante (*visione fotopica*) e dalla loro funzionalità dipendono l'acutezza visiva e il discernimento dei colori; questi recettori possono rapidamente adattarsi a stimoli luminosi ripetuti ma presentano una sensibilità minore, non percependo dunque livelli di scarsa luminosità (Gelatt *et al.*, 2013). La popolazione dei coni è maggiormente concentrata nella porzione centrale della retina —*area centralis*— nella maggior parte degli animali, pertanto questa regione è responsabile della percezione delle diverse gradazioni di colore, della visione binoculare e della percezione di profondità dell'immagine (Donovan *et al.*, 1974b). La retina del cane, in realtà, si discosta da questo modello; in questa specie, infatti, la densità dei coni nell'*area centralis* è bassa (23 cellule / mm²) e aumenta notevolmente spostandosi verso la periferia inferiore della retina, raggiungendo una concentrazione di 75000 cellule / mm². I bastoncelli nel

cane hanno una concentrazione di 501 cellule / mm² nell' *area centralis* e di 305 cellule / mm² alla periferia (Mowat *et al.*, 2008).

La **membrana limitante esterna** è uno strato sottilissimo che ha la funzione di impedire il diretto contatto tra coni e bastoncelli, formando una barriera tra lo spazio extracellulare delle cellule visive e il resto della retina sensoriale. Rappresenta un meccanismo di protezione di queste cellule, mantenendo i nuclei dei fotorecettori al riparo dall'elevata attività metabolica dei segmenti più interni, scongiurando pertanto potenziali danni di tipo ossidativo (Gelatt *et al.*, 2013).

Lo **strato dei granuli esterni** è costituito dai *segmenti interni*, ovvero dai corpi cellulari dei fotorecettori, contenenti i nuclei e i mitocondri, disposti su diverse file, il cui numero varia fortemente in base alla specie e alla porzione di retina considerata; in corrispondenza dell'*area centralis*, nel cane e nel gatto, si osserva il maggior numero di file di nuclei sovrapposte, rispettivamente 12-15 e 19-20. Questo strato si assottiglia gradualmente andando verso la periferia della retina, di pari passo con il decrescere della densità di coni e bastoncelli (Gelatt *et al.*, 2013).

Lo **strato plessiforme esterno** è formato dalle terminazioni sinaptiche dei fotorecettori che prendono contatto con i dendriti delle *cellule orizzontali* e delle *cellule bipolari*, i cui corpi cellulari si trovano localizzati nello **strato**

dei granuli interni, insieme alle *cellule amacrine* e alle *cellule di Müller*, tutte coinvolte nell'elaborazione e nell'integrazione degli stimoli (Rodieck, 1973; Sigelman & Ozanics, 1988). Le cellule bipolari sono numericamente le più abbondanti e, essendo dotate di due assoni, costituiscono una connessione tra i fotorecettori e le cellule gangliari e amacrine (Gelatt *et al.*, 2013). Queste ultime sono prive di assoni, ma fungono anch'esse da connessione tra le cellule bipolari, cellule gangliari e altre cellule amacrine, grazie ai prolungamenti dendritici di cui sono provviste. Le **cellule amacrine** sono neuroni di tipo inibitorio e contengono neurotrasmettitori come GABA e glicina. La loro funzione è di modulazione dello stimolo, permettendo una maggiore sensibilità ai cambiamenti di illuminazione e contribuendo ad una migliore percezione del contrasto, del movimento e della provenienza dell'immagine da parte delle cellule multipolari (Werblin, 2010). Le **cellule di Müller** sono le più importanti cellule retiniche non neuronali e sono, perlopiù, localizzate nella porzione esterna dello strato dei granuli interni. La funzione è di supporto strutturale, in quanto i loro prolungamenti riempiono la maggior parte dello spazio extracellulare tra le altre cellule presenti. Esse possiedono degli pseudopodi in grado di fagocitare sostanze estranee o nocive; le superfici laterali di questi pseudopodi sono dotate di *gap junction*, grazie alle quali viene facilitato il transito di informazioni attraverso la retina. Nella maggior parte delle specie, le cellule di Müller

contraggono stretti contatti con i capillari sanguigni, indicando pertanto una probabile partecipazione alla costituzione della barriera emato-retinica, oltre che una funzione di captazione di nutrienti per la retina e di smaltimento dei metaboliti. Le cellule di Müller hanno ancora altri ruoli: sintetizzano e immagazzinano glicogeno, proteggendo così la retina dalle fluttuazioni dei livelli sistemici di glicemia; contribuiscono al mantenimento dell'equilibrio anionico, in particolare degli ioni K^+ ; sono attive nel metabolismo dei neurotrasmettitori come GABA, dopamina e glutammato; infine, sono attivate dai mediatori dell'infiammazione, contribuendo alla risposta immunitaria retinica conseguente a un insulto (Gelatt *et al.*, 2013).

Lo **strato plessiforme interno** ospita le connessioni sinaptiche tra le cellule neuronali appena descritte; si presenta notevolmente più spesso rispetto al corrispondente strato esterno. I neurotrasmettitori coinvolti in questi collegamenti sinaptici sono oltre 30 —tra i quali glicina, dopamina, taurina, acetilcolina, GABA— responsabili di risposte di tipo eccitatorio o inibitorio (Park *et al.*, 1994; Boycott & Wassle, 1974).

Lo **strato delle cellule multipolari**, o gangliari, è costituito da tre diversi tipi di cellule, oltre a quelle neurogliali e ai capillari sanguigni. È formato da un singolo strato di cellule tranne che nell'*area centralis*, dove può avere due o tre stratificazioni (Gonzalez-Soriano *et al.*, 1995). Le *cellule alfa* possiedono

scarse ramificazioni dendritiche e si osservano soprattutto nella parte periferica della retina, seppur in numero limitato. Nella retina canina la densità di queste cellule varia considerevolmente (Peichl, 1992). Le *cellule beta* sono di dimensioni inferiori, ma possiedono un maggior numero di ramificazioni; sono inoltre più numerose e si osservano soprattutto a livello dell'*area centralis* piuttosto che in periferia. Le *cellule gamma*, generalmente non dotate di ramificazioni dendritiche, si trovano maggiormente rappresentate nella porzione centrale della retina (Stone & Keens, 1980). Questi neuroni contraggono sinapsi con le cellule bipolari e le cellule amacrine nello strato plessiforme interno, mentre con i loro assoni formano lo **strato delle fibre nervose** e fluiscono verso il polo posteriore a formare il nervo ottico, aumentando di spessore. Per garantire la trasparenza della retina, queste fibre sono prive di mielina. Nello strato sono presenti anche cellule neurogliali e cellule di Müller (Garcia-Sanchez *et al.*, 2007). Le cellule multipolari presentano una conduzione centripeta dello stimolo, ovvero gli impulsi partono dalla retina e sono diretti al Sistema Nervoso Centrale (Matsuyama, 1973; Rodieck, 1973).

Come ultima componente, è possibile osservare la **membrana limitante interna**, costituita dalle terminazioni delle cellule di Müller fuse tra loro (Gelatt *et al.*, 2013).

Nervo ottico

Gli assoni delle cellule multipolari, costituenti lo strato delle fibre nervose, si accorpano a livello del polo posteriore del globo oculare andando a formare la *papilla ottica*. Da questo punto in poi, le fibre nervose si organizzano in un fascio nervoso che attraversa la coroide e la sclera sfociando nella cavità orbitale: il nervo ottico (Brooks *et al.*, 1999). Oltre agli assoni delle cellule gangliari, il nervo ottico è costituito da diverse popolazioni di cellule gliali: gli *oligodendrociti* sono deputati alla mielinizzazione delle fibre nervose; gli *astrociti* giocano un ruolo importante nel trasporto e nell'immagazzinamento dei metaboliti —soprattutto glicogeno e potassio— utilizzati dagli assoni; le *cellule della microglia* rappresentano i macrofagi delle fibre nervose e contribuiscono alla risposta immunitaria. Per le sue caratteristiche anatomiche e funzionali, il nervo ottico viene considerato un tratto di fibra nervosa cerebrale piuttosto che un nervo periferico, si estende dal globo oculare al chiasma ottico e può essere suddiviso in quattro regioni: intraoculare, intraorbitale, intracanalicolare e intracraniale (Hogan *et al.*, 1971).

Il nervo ottico intraoculare è costituito dalle porzioni retinica, coroidale (che insieme costituiscono la papilla ottica) e sclerale. Il termine papilla ottica si riferisce all'ispessimento dell'estremità intraoculare del nervo ottico e la sua

forma e il suo sviluppo variano molto nelle diverse specie e tra un individuo e l'altro. Al centro della papilla ottica si osserva una depressione definita *escavazione fisiologica*, delimitata da una placca di cellule gliali conosciuta come *menisco centrale di Kuhnt*. Le fibre nervose assonali, a partire dalla papilla ottica, si raggruppano in fasci ricoperti da elementi gliali —astrociti fibrosi— e collagene —*lamina cribrosa*. Gli astrociti sono orientati perpendicolarmente alla lunghezza dei fasci e separano le fibre nervose dai componenti non-neuronali presenti (fibre connettivali, capillari sanguigni, cellule della microglia), costituendo una sorta di guaina-guida per i fasci nervosi all'interno della lamina cribrosa (Hayreh, 1974).

La lamina cribrosa si distingue in una regione anteriore, coroidale, e in una posteriore, derivante dalla sclera; ogni foro laminare è attraversato da un capillare non fenestrato. All'interno degli assoni sono presenti numerosi mitocondri, vescicole e altro materiale citoplasmatico che continuamente viene trasportato tramite un flusso ortogrado —verso la sinapsi terminale— e un flusso retrogrado —verso il soma cellulare. Lo spostamento di questo fluido è conosciuto come *flusso assonale* e rappresenta il motivo dell'importante richiesta, da parte del nervo ottico, della sintesi di nuove proteine. Questo flusso, normalmente continuo, può subire un rallentamento o un blocco proprio a livello della lamina cribrosa, nel punto in cui le fibre

nervose fuoriescono dal globo oculare, con un conseguente aumento della Pressione Intraoculare (IOP). Allo stesso modo, un aumento della IOP, dovuta ad altre cause, può determinare un disallineamento dei fori laminari con conseguente interruzione del flusso assonale (Hogan *et al.*, 1971).

Il numero di fibre nervose che costituiscono il nervo ottico, il diametro e la loro densità variano considerevolmente all'interno di ogni specie (Levy *et al.*, 1996). Non esiste un rapporto di correlazione tra le dimensioni del globo oculare ed il numero totale di fibre nervose costituenti il nervo ottico.

La regione orbitale del nervo è ricoperta dalle meningi, a partire dall'esterno: la spessa *dura madre*, fusa anteriormente alla sclera; l'*aracnoide*, costituita da trabecole di collagene ricoperte di cellule meningoteliali di natura fibroblastica (Donovan *et al.*, 1974b); la *pia madre*, intimamente adesa al nervo ed estroflessa a formare dei setti radiali all'interno del nervo stesso, suddividendolo in colonne. Il liquido cefalorachidiano, presente tra le meningi all'interno del nervo ottico, penetra la sclera perineurale e si diffonde all'interno dei vasi coroidali (Uberreiter, 1959).

L'**arteria oftalmica interna**, relativamente piccola, è responsabile dell'irrorazione del nervo ottico e crea delle anastomosi, particolarmente pronunciate nel cane, con un ramo dell'arteria oftalmica esterna (Gelatt *et al.*, 2013).

La vascolarizzazione della retina e della coroide deriva dalle arterie ciliari posteriori lunghe e brevi, ma sono le brevi a irrorare principalmente la retina e sono per questo anche definite **arteriole cilioretiniche** (Henkind, 1966). Nel cane sono approssimativamente venti e si irradiano a partire dalla papilla ottica, mentre tre o quattro sono le vene principali, le **vene vorticose**; altre vene di minor calibro affluiscono alle vene vorticose a livello della papilla ottica per formare la **vena retinica centrale**, molto corta. Nel cane i vasi sanguigni retinici seguono un decorso particolarmente tortuoso (Gelatt *et al.*, 2013) .

Capitolo II

La formazione dell'immagine: dalla retina alla corteccia visiva

La formazione dell'immagine inizia con un meccanismo puramente ottico, ovvero con l'attraversamento delle camere dell'occhio da parte dei fotoni e l'interazione di questi con il segmento esterno dei fotorecettori. Si parla invece di fase neuronale a partire dall'assorbimento dei fotoni da parte dei fotopigmenti, fino all'arrivo dello stimolo a livello della *cortex visiva* (Hargrave *et al.*, 1984). Un fotopigmento è costituito da due componenti: l'*opsina* —una apoproteina determinante la lunghezza d'onda del fotone che può essere assorbita dal pigmento— e un *cromoforo*. Mentre la molecola di **rodopsina** (dei bastoncelli) ha mantenuto una struttura conservativa nell'evoluzione delle specie, risultando dunque molto simile in tutti i mammiferi (Bowmaker, 2008), esiste un'enorme divergenza evolutiva per quanto riguarda l'opsina dei coni e la maggior parte dei mammiferi possiede almeno due classi di questa proteina: una sensibile alle lunghezze d'onda

brevi e una a quelle lunghe (Shichida & Matsuyama, 2009). Una stessa molecola di cromoforo si trova invece sia nei coni sia nei bastoncelli ed è una molecola derivante dalla vitamina A1, lo 11-cis- retinolo o, più semplicemente, **retinolo** (Wald, 1935).

Fototrasduzione

Si tratta del processo di conversione dello stimolo luminoso in segnale neuronale. I fotoni, una volta raggiunta la retina, trasferiscono il 60% della loro energia ai fotopigmenti con cui vengono in contatto (Ripps, 2010); questa energia viene utilizzata per innescare una reazione a catena detta di *decolorazione*, la quale porterà al distacco dell'opsina e alla fotoisomerizzazione della 11-cis-retinaldeide, attraverso una serie di passaggi intermedi (Nakamichi & Okada, 2006). Il processo viene definito di “decolorazione” per la perdita di colore da parte della molecola del fotopigmento.

I fotorecettori in assenza di luce si trovano in uno stato “attivato”, ovvero sono depolarizzati e rilasciano glutammato, neurotrasmettitore di tipo eccitatorio. Questa depolarizzazione è mantenuta da un costante flusso di ioni Na^+ e Ca^+ all'interno della cellula, bilanciato dalla fuoriuscita di ioni K^+ ; l'entrata dei cationi nei fotorecettori avviene attraverso recettori-canali cGMP. Il risultato finale del processo di fototrasduzione è un decremento dei

livelli di cGMP con la conseguente chiusura dei canali ionici (Karpen *et al.*, 1988): il flusso di Na^+ e Ca^+ si interrompe, la cellula subisce una iperpolarizzazione e si inattiva, con una drastica riduzione del rilascio di glutammato nel terminale sinaptico del fotorecettore. È stato calcolato che l'assorbimento di un singolo fotone può determinare la chiusura del 4% dei canali del segmento esterno del fotorecettore (Gelatt *et al.*, 2013).

La conoscenza del meccanismo di fototrasduzione permette anche di comprendere la patogenesi di alcune degenerazioni retiniche e delle displasie fotorecettoriali. Una carenza del cromoforo, ad esempio, causa la degenerazione dei bastoncelli, dovuta a una costante attivazione della fototrasduzione per la grande quantità di rodopsina libera presente (Veske *et al.*, 1999).

Mentre la stimolazione luminosa determina la reazione di decolorazione, in assenza di luce si ha la rigenerazione del pigmento; da ciò si deduce che un'intensa e prolungata stimolazione luminosa potrebbe, di conseguenza, determinare la deplezione di tutti i fotopigmenti retinici, ma allo stesso modo una lunga esposizione al buio permette la loro completa reintegrazione. In condizioni normali, a livelli intermedi di illuminazione, si assiste ad un processo continuo e dinamico di decolorazione e rigenerazione dei pigmenti,

permettendo il mantenimento di un equilibrio e l'adattamento a diversi livelli di luminosità (Jin *et al.*, 2005).

Il primo passaggio della reazione di rigenerazione del pigmento avviene nel segmento esterno del fotorecettore, mentre la restante parte si svolge nell'epitelio retinico pigmentato; a causa della compartimentalizzazione degli enzimi, se la retina neuronale subisce un distacco dall'epitelio retinico pigmentato il processo di rigenerazione non può avere luogo e si assiste ad una rapida perdita della funzione visiva per deplezione dei pigmenti, come avviene in corso di distacco retinico (Gelatt *et al.*, 2013).

I **fotorecettori** rappresentano la popolazione cellulare più numerosa della neuroretina e, come già accennato, si dividono in due classi: coni e bastoncelli. Questi due tipi cellulari si distinguono l'uno dall'altro per una distribuzione diversa all'interno della retina e per differenze di tipo morfologico e funzionale. La proporzione di coni e bastoncelli varia in base alla specie animale. Più nel dettaglio, le specie a vita diurna, predatori che per cacciare hanno la necessità di una visualizzazione dettagliata della preda o quelle specie che utilizzano la brillantezza dei propri colori nel comportamento sessuale presentano una maggiore percentuale di coni; diversamente, nelle specie a vita notturna o negli animali preda, che al pascolo devono avere una rapida percezione dei movimenti periferici,

prevalgono i bastoncelli. Anche la loro distribuzione all'interno del tessuto retinico varia a seconda della specie; in particolare, negli animali dotati di una vista ad alta risoluzione si osserva un'area caratterizzata da un'elevata densità di coni, definita *fovea* —poiché si presenta come una depressione— in molte specie aviarie e nei primati e *area centralis* nelle altre specie. Nonostante questa zona della retina posseda la maggiore concentrazione di coni, nell'*area centralis* delle specie “nonfoveate” sono i bastoncelli a prevalere.

Morfologicamente i fotorecettori si possono suddividere in quattro regioni: il segmento esterno, il segmento interno, il nucleo ed il terminale sinaptico. A livello del segmento esterno avviene il processo di fototrasduzione ed è caratterizzato dalla presenza di doppie membrane ripiegate chiamate *dischi*, in cui sono concentrate le molecole di fotopigmento (Gelatt *et al.*, 2013; Wang & Kefalov, 2011). Il segmento esterno subisce continuamente uno sfaldamento, a causa degli insulti di tipo foto-ossidativo, con dispersione di frammenti, i quali sono prontamente fagocitati dall'Epitelio Retinico Pigmentato (Nguyen-Legros & Hicks, 2000). Il segmento esterno dei bastoncelli appare allungato e sottile —circa 2 μm di diametro, il che permette un'elevata densità bastoncellare alla periferia della retina, incrementando così la capacità di captazione di scarse quantità di fotoni alla

luce crepuscolare. I coni, al contrario, si presentano spessi due o tre volte i bastoncelli, ad eccezione fatta di quelli ubicati nell'*area centralis*, i quali sono più sottili per garantire una maggiore densità fotorecettoriale (MacLeod, 1972). Il segmento esterno è connesso attraverso un *cilium* al segmento interno, il quale è ricco di mitocondri e contiene il reticolo endoplasmatico e l'apparato del Golgi. L'opsina viene sintetizzata a livello dell'apparato del Golgi e, tramite il *cilium*, trasportata alla base del segmento esterno, dove viene incorporata all'interno di un'invaginazione della membrana plasmatica per la formazione dei dischi (Gelatt *et al.*, 2013). Gli assoni dei bastoncelli sono sottili e ciò spiega la lenta risposta allo stimolo luminoso che li caratterizza, mentre gli assoni dei coni sono spessi, garantendo una più rapida conduzione (MacLeod, 1972). Il terminale sinaptico dei coni, che appare largo e appiattito, è chiamato *pedicello*, mentre quello dei bastoncelli è più piccolo e rotondeggiante ed è detto *sferula*, entrambi, a livello dello strato plessiforme esterno, contraggono delle sinapsi con i processi dendritici delle cellule bipolari e orizzontali (Schmitz, 2009).

Le **cellule orizzontali** e le **cellule bipolari** sono neuroni di secondo ordine della retina e provvedono alla connessione tra i fotorecettori —neuroni di primo ordine— e le cellule multipolari —neuroni di terzo ordine (Twig *et al.*, 2002). Le cellule orizzontali prendono contatto con i fotorecettori

disponendosi lateralmente ad essi, attraverso lo strato plessiforme esterno; si tratta di interneuroni inibitori, la cui funzione è di integrare gli stimoli provenienti dai fotorecettori, aumentandone la sensibilità alle variazioni di illuminazione (ovvero al contrasto) e ai colori. Queste cellule rispondono agli stimoli luminosi con diversi gradi di iperpolarizzazione, la cui ampiezza e durata dipendono dall'intensità dello stimolo stesso (Svaetichin & MacNichol, 1959). I dendriti delle cellule bipolari formano sinapsi sia con i fotorecettori che con le cellule orizzontali nello strato plessiforme esterno, mentre i loro assoni si localizzano nello strato plessiforme interno, in cui avvengono le sinapsi con le cellule amacrine e le cellule multipolari. Anatomicamente si distinguono due sottopopolazioni di cellule bipolari, specifiche una per i coni e l'altra per i bastoncelli. La via di trasmissione dei bastoncelli è definita *convergente*, in quanto ogni cellula bipolare specifica riceve gli stimoli da parte di un gruppo di bastoncelli; è caratterizzata perciò da un ampio campo di ricezione, che risulta dalla somma di tanti piccoli input provenienti da diversi fotorecettori. Questa è la chiave della visione scotopica: è infatti sufficiente l'assorbimento di un singolo fotone all'interno del campo di ricezione a stimolare la via di trasmissione dei bastoncelli. All'inverso, ogni singola cellula bipolare specifica riceve gli stimoli da un solo cono: la via di trasmissione dei coni è dunque caratterizzata da un piccolo campo di ricezione ed è detta *non convergente*, permettendo un tipo

di visione ad alta risoluzione. Un'altra chiave di classificazione si basa sulle diverse caratteristiche funzionali del centro e della periferia della cellula. Le *cellule a centro on e periferia off* vengono attivate quando la luce ne stimola il centro e inibite quando questo non è illuminato; le medesime cellule vengono inibite quando uno stimolo luminoso ne colpisce la periferia e attivate quando questa si trova in assenza di luce. Quando sia il centro che la periferia vengono colpiti dallo stimolo luminoso, ne risulta un'attivazione modulata dall'eccitazione del centro e l'inibizione della periferia, allo stesso modo l'assenza di luce su tutta la cellula determinerà un'inibizione centrale ed un'eccitazione periferica. Le *cellule a centro off e periferia on* seguono un meccanismo di funzionamento inverso (Hubel, 1963; Gelatt *et al.*, 2013).

I neuroni di terzo ordine, a cui convergono tutte le informazioni processate dalla retina, sono le **cellule multipolari** (Schiller, 2010). Esistono diverse classificazioni di queste cellule, in base alla morfologia, alla modalità di attivazione, alla loro distribuzione all'interno della retina e al tipo di informazione veicolata. Seguendo la classificazione che tiene conto di morfologia e distribuzione, le cellule beta sono piccole e numerose, creano collegamenti con il sistema dei coni e trasmettono informazioni sul colore e sulla percezione dei dettagli. Le cellule alfa sono di dimensioni maggiori ma di numero inferiore, ricevono informazioni relative al contrasto luminoso e

alla percezione del movimento dal sistema dei bastoncelli e dalle cellule amacrine. Queste cellule sono caratterizzate da una risposta di tipo fasico, transitoria, mentre le cellule beta da una risposta continuativa, di tipo tonico. Le cellule gamma possono avere una risposta allo stimolo luminoso sia di tipo fasico che di tipo tonico, ricevono informazione dal sistema dei coni e contribuiscono alla visione fotopica ad alta risoluzione.

Queste cellule gangliari presentano una frequenza di scarica basale in assenza di luce e si osservano variazioni di attività, in risposta alla luce o al buio, secondo un meccanismo “on-off”, simile a quello delle cellule bipolari. Proprio come avviene per queste ultime, il risultato è un’elevata percezione di contrasto luminoso attraverso stimolazioni centrali o periferiche delle cellule stesse (Gelatt *et al.*, 2013).

In tempi più recenti è stata scoperta una nuova classe di cellule multipolari, si tratta di cellule contenenti un pigmento fotorecettivo chiamato **melanopsina** (Lucas *et al.*, 1999). La fototrasduzione in queste cellule porta a una lenta depolarizzazione, in contrasto con la rapida iperpolarizzazione di coni e bastoncelli. Oltre alla trasmissione del segnale al SNC, queste cellule presentano collegamenti anche con il nucleo oculomotore accessorio (parasimpatico) e si ritengono, pertanto, implicate nel controllo del riflesso fotomotore (PLR). La loro presenza, infatti, spiega l’esistenza del riflesso

anche in corso di degenerazione avanzata dei fotorecettori, di distacco retinico e di altre retinopatie (Lucas *et al.*, 2003).

La retina possiede, dunque, due linee di trasmissione del segnale, la via dei coni e la via dei bastoncelli. Analizzando la questione da un altro punto di vista, si può anche dire che le due vie di trasmissione retiniche siano quella delle cellule bipolari “centro on”, depolarizzate dall’aumento dei livelli di luce, e la via delle cellule bipolari “centro off”, depolarizzate da decrementi di luminosità. Le cellule “centro off” sono caratterizzate da recettori eccitatori ionotropici per il **glutammato**: essi vengono stimolati —e le cellule subiscono una depolarizzazione— nelle fasi di buio, quando il glutammato viene rilasciato dai coni. Dall’altro lato, le cellule “centro on” possiedono dei recettori inibitori metabotropici, che, stimolati sempre dal glutammato rilasciato in assenza di luce, ne causano l’iperpolarizzazione. La stimolazione luminosa —con la conseguente diminuzione dei livelli di glutammato— determina la cessazione di questa inibizione e la cellule viene depolarizzata. La via dei coni è breve ed è costituita da solo due tipi di sinapsi: tra la cellula cono e la cellula bipolare e tra questa e una cellula multipolare (Chalupa & Gunhan, 2004; Xu & Tian, 2004). I diversi tipi di opsine, presenti nel segmento esterno, contribuiscono alla percezione dei colori, mentre la densità dei coni a livello della zona centrale della retina, lo stretto rapporto

tra le cellule cono, le bipolari e le multipolari permettono un campo ricettivo ristretto, essenziale per una visione ad alta risoluzione. La conformazione assonale dei coni e l'assenza di collegamenti laterali con cellule amacrine determinano, invece, una conduzione rapida e una risposta pronta alla stimolazione luminosa (Gelatt *et al.*, 2013).

La via di trasmissione dei bastoncelli differisce da quella dei coni per alcune importanti caratteristiche; prima di tutto esiste un solo tipo di cellula bipolare specifica per i bastoncelli, contrariamente alla varietà esistente di bipolari specifiche per i coni. Tutte le cellule bipolari per bastoncelli esprimono recettori per il glutammato di tipo metabotropico inibitorio, pertanto la stimolazione luminosa —e il conseguente diminuito rilascio di glutammato da parte dei bastoncelli— annulla l'azione inibitoria su questi recettori, permettendo la depolarizzazione cellulare. Un'altra differenza significativa è nella sinapsi con le cellule bipolari mediata dalle cellule amacrine, il che permette una sommatoria degli stimoli trasmessi dai bastoncelli e, di conseguenza, una convergenza della via di trasmissione (Sharpe & Stockman, 1999).

L'**acetilcolina** è un altro neurotrasmettitore eccitatorio presente nella retina, rilasciato dalle cellule amacrine (Zhou & Lee, 2008). La componente inibitoria è invece rappresentata primariamente dal **GABA**, rilasciato

all'interno dei terminali sinaptici laterali delle cellule amacrine e orizzontali (Calaza *et al.*, 2006); insieme alla **glicina**, il GABA agisce inibendo le cellule multipolari aprendo i canali per il cloro (Lynch, 2009). **Dopamina** e **serotonina** sono infine rilasciate dalle cellule amacrine con funzione modulatoria (Brandies & Yehuda, 2008).

Dalla retina alla *Cortex Visiva*

Le cellule multipolari sono gli unici neuroni retinici in grado di generare un potenziale d'azione. A riposo si trovano in uno stato di iperpolarizzazione, dovuto al continuo flusso verso l'esterno di ioni K^+ compensato dall'entrata di ioni Na^+ ; con l'apertura dei canali del sodio ne aumenta la concentrazione intracellulare, con conseguente rapida depolarizzazione e propagazione a valle del potenziale d'azione (Kaplan *et al.*, 2001).

Le fibre del nervo ottico seguono una disposizione retinotopica, ovvero l'esatta collocazione spaziale delle cellule bipolari all'interno della retina è mantenuta dagli assoni delle stesse all'interno del nervo ottico. Questa disposizione accurata consente una proiezione esatta del campo visivo al *nucleo laterale genicolato* e alla corteccia visiva (Haupt & Huber, 2008).

Proseguendo nel suo decorso, gradualmente il nervo migra preparandosi alla decussazione a livello del cosiddetto *chiasma ottico* (Reese, 2011). Generalmente le fibre provenienti dalla retina temporale rimangono ipsilaterali, mentre quelle derivanti dalla retina nasale si incrociano raggiungendo il versante controlaterale. Il grado di decussazione varia molto a seconda della specie e rappresenta una differenza evolutiva; negli uccelli tutte le fibre si spostano nella porzione controlaterale; al contrario nei mammiferi, che hanno sviluppato una vista di tipo binoculare, una buona percentuale di fibre rimane nel versante ipsilaterale (il 25% nel cane). Questa decussazione parziale consente a entrambi gli emisferi di continuare a ricevere input visivi, anche quando una delle retine o dei nervi ottici sono stati completamente distrutti, permettendo all'animale di mantenere una migliore funzione visiva (Fraser *et al.*, 2011). Nelle specie in cui un'elevata percentuale di fibre subisce la decussazione, la maggior parte del campo visivo di destra sarà proiettato dal nervo ottico di sinistra, viceversa il nervo ottico di destra proietterà in maggior misura il campo visivo sinistro.

Solo l'80-90% delle fibre del nervo ottico giunge a livello del nucleo laterale genicolato; circa un 10-20% degli assoni delle cellule multipolari, infatti, comprese quelle contenenti melanopsina, lascia il tratto ottico prima dell'arrivo nel nucleo e trasmette informazioni visive ai centri extracorticali

(Nevin *et al.*, 2010). In particolare, alcune di queste fibre portano informazioni al *nucleo pretettale* e, attraverso esso, al *nucleo parasimpatico oculomotore*, costituendo la via afferente del riflesso pupillare fotomotore. Alcune fibre formano sinapsi con il *collicolo superiore*, il quale controlla i movimenti saccadici dell'occhio e le informazioni in entrata da parte degli altri organi di senso, contribuendo pertanto all'integrazione tra gli stimoli sensoriali. Altre fibre contribuiscono al controllo dei riflessi optocinetici, al controllo del ritmo circadiano e all'attività endocrina dell'ipotalamo (Gelatt *et al.*, 2013).

Per la maggior parte delle fibre del nervo ottico, però, la sinapsi avviene a livello del nucleo genicolato laterale (LGN), il quale segue la stessa architettura retinotopica: ogni strato del nucleo costituisce una precisa mappa monoculare dell'emi-campo visivo controlaterale. Le cellule del LGN inviano delle proiezioni assonali, trasmettendo lo stimolo alla corteccia visiva primaria e agli altri centri visivi. Anche per quanto riguarda la *cortex visiva primaria*, la ricezione degli stimoli segue uno schema spaziale preciso che rispecchia, punto per punto, la provenienza dalle diverse aree della retina (Briggs & Usrey, 2011). A causa della particolare importanza degli stimoli provenienti dall'*area centralis*, una porzione corticale più ampia è deputata alla loro ricezione (Daniel & Whitteridge, 1961). A livello retinico

tutti gli stimoli luminosi, provenienti dai diversi campi visivi, sono proiettati in aree di dimensioni simili, indipendentemente che si tratti di zone retiniche centrali o periferiche; a fare la differenza, in termini di risoluzione e accuratezza dell'immagine, è la densità, in corrispondenza di quella determinata area, di fotorecettori e/o cellule multipolari. A livello corticale, al contrario, la densità neuronale è la stessa sia per quanto riguarda le aree centrali che periferiche, pertanto ad aumentare la capacità di discriminazione visiva è l'ampiezza della porzione di corteccia corrispondente a una precisa area retinica (Tusa *et al.*, 1978).

Capitolo III

Il Riflesso Fotomotore

La visita neuroftalmologica di base

Come prima cosa occorre dare una definizione di *riflesso*, differenziandolo da una risposta allo stimolo o *reazione*. Un riflesso si ottiene in conseguenza di uno stimolo ben preciso, è pressoché istantaneo, transitorio e prevedibile; esso si verifica a seguito dell'attivazione di un *arco riflesso*, caratterizzato da un recettore sensoriale, una via nervosa afferente, uno o più interneuroni, una via nervosa efferente e un muscolo effettore. A differenza delle reazioni, i riflessi non attivano i centri cerebrali superiori e pertanto non necessitano di apprendimento (Gelatt *et al.*, 2013).

La **reazione di minaccia** è una risposta acquisita a uno stimolo meccanico, potenzialmente pericoloso, rivolto in direzione dell'occhio; la risposta consiste nella chiusura dell'occhio ipsilaterale, associata o meno a una retrazione del globo oculare e a movimenti di allontanamento della testa dalla fonte dello stimolo. La reazione di minaccia è una risposta corticale

acquisita, pertanto non presente nei cuccioli e nei gattini fino alle 12 settimane o comunque non prima delle 4 settimane dopo la nascita (Lavelly, 2006). Nell'eseguire lo stimolo di minaccia, occorre prestare attenzione a non toccare con il dito o la mano peli tattili e vibrisse, né a generare un eccessivo spostamento d'aria, determinando dei falsi positivi in un occhio non visivo. Lo stimolo di minaccia deve provenire dalle diverse aree del campo visivo, in modo da fornire informazioni anche su eventuali stati di deficit visivi parziali. È importante, contemporaneamente, coprire la visuale dell'occhio controlaterale nelle specie con occhi frontali, come i carnivori (Gelatt *et al.*, 2013). Lo stimolo, attraverso il nervo ottico e il nucleo laterale genicolato, raggiunge la *cortex visiva*, qui viene elaborato e trasmesso alla *cortex motoria primaria*, la quale genera la risposta. Affinché si verifichi la reazione, è necessario il funzionamento di retina, II nervo cranico (nervo ottico), branca palpebrale del VII nervo cranico (nervo facciale) e *cortex visiva*; la retrazione del globo, quando presente, è mediata dal VI nervo craniale (nervo abducente) (Scagliotti, 1999). In alcuni studi è stato osservato come anche lesioni degenerative diffuse a livello cerebellare causino una mancata reazione di minaccia, pur in assenza di deficit visivi o disfunzioni neurologiche facciali (De Lahunta & Glass, 2009h). Risposte deboli o risultati falsi negativi possono verificarsi in soggetti molto spaventati o depressi e può rendersi necessario ripetere il test in un secondo

momento; può essere utile, per richiamare l'attenzione del soggetto, effettuare una stimolazione del riflesso palpebrale, picchiettando leggermente il canto laterale e mediale dell'occhio in esame. Un occhio visivo può dare una risposta negativa all'esame se è presente una paralisi ipsilaterale del nervo facciale (Gelatt *et al.*, 2013).

Il **riflesso palpebrale**, o riflesso di ammiccamento, si elicitava toccando delicatamente la cute del canto laterale e del canto mediale e si manifesta con la chiusura delle palpebre a ogni singolo contatto. La via afferente è rappresentata dalle branche oftalmica —per il canto mediale— e mascellare —per il canto laterale— del V nervo craniale (nervo trigemino) e la via efferente dal VII nervo craniale (nervo facciale) (Gelatt *et al.*, 2013). Il riflesso compare precocemente, a 2-4 giorni dalla nascita nel cucciolo e a 1-3 giorni nel gattino (Lavelly, 2006). Condizioni che possono indurre una risposta falsa negativa —in un occhio visivo e con arco riflesso integro— sono la presenza di buftalmo e di esoftalmo, mentre una chiusura incompleta della rima palpebrale —lagoftalmo— si osserva frequentemente nelle razze brachicefaliche sia canine che feline (Gelatt *et al.*, 2013).

Il **riflesso corneale** è uno dei riflessi più sensibili esistenti, essendo la cornea una struttura altamente reattiva agli stimoli tattili e dolorosi. Alcune branche nervose, derivanti dai nervi ciliari lunghi, penetrano nello stroma corneale a

partire da sclera, episclera e congiuntiva, seguendo una distribuzione di tipo radiale. Una volta all'interno dello stroma corneale, le fibre perdono il rivestimento mielinico e formano un plesso nervoso, il quale rappresenta la rete nervosa sensoriale più riccamente densa di fibre dell'intero organismo (Rozsa & Beuerman, 1982). Il riflesso corneale è evocato da una lieve stimolazione tattile sulla superficie corneale periferica laterale (per evitare di generare uno stimolo visivo), utilizzando un oggetto sterile atraumatico (ad esempio un cotton-fioc) e si manifesta con la chiusura palpebrale e la retrazione del globo oculare. La via afferente è rappresentata dalla branca oftalmica del V nervo cranico (nervo trigemino) e la via efferente dal VII nervo cranico (nervo facciale) per la chiusura palpebrale e dal VI nervo cranico (nervo abducente) per la retrazione del globo (Gelatt *et al.*, 2013). Nel cane è stata dimostrata una maggiore sensibilità della regione centrale della cornea, seguita dalla regione nasale e temporale; al contrario, le regioni della cornea meno esposte agli insulti meccanici ovvero le regioni dorsali e ventrali, vicine ai margini palpebrali, risultano essere le meno sensibili (Barrett *et al.*, 1991).

Il riflesso di abbagliamento o *dazzle reflex* è un riflesso subcorticale che permette di valutare l'integrità delle vie ottiche; è caratterizzato dalla chiusura parziale del margine palpebrale in risposta all'esposizione a una

fonte luminosa intensa, presentata in entrambi gli occhi separatamente (Burke & Hackley, 1997; Plainis *et al.*, 2006). Si può verificare anche la chiusura dell'occhio controlaterale, ma nella maggior parte dei casi ciò non avviene (Sherman *et al.*, 1981). Gli studi condotti fino ai nostri giorni sul cane non sono giunti all'esatta conoscenza di tutte le strutture anatomiche coinvolte in questo riflesso, ma studi comparativi effettuati sull'uomo fanno ipotizzare la partecipazione di: retina, II paio di nervi cranici (nervo ottico), collicolo rostrale e/o nucleo sopraottico dell'ipotalamo e VII paio di nervi cranici (nervo facciale) (Gelatt *et al.*, 2013). A differenza della reazione di minaccia, che vede un coinvolgimento corticale, il *dazzle reflex* è un riflesso subcorticale e pertanto presente fin dalla nascita o, al più tardi, 1-2 giorni dopo nel cucciolo e nel gattino (Lavelly, 2006). Affinché il test sia attendibile è importante scegliere una fonte luminosa sufficientemente intensa, ma il calore da essa generato, se tenuto troppo in prossimità della cornea, può dar luogo a risultati falsi positivi. L'esame del *dazzle reflex* risulta particolarmente utile nei casi in cui la pupilla non è osservabile e pertanto non è valutabile il riflesso fotomotore, come in corso di ifema o edema corneale. Allo stesso tempo, non essendo del tutto note le vie nervose coinvolte, questo test permette di diagnosticare esclusivamente lesioni a carico delle vie ottiche subcorticali (retina e nervo ottico) (Gelatt *et al.*, 2013).

Riflesso Pupillare Fotomotore

La funzione visiva può essere grossolanamente distinta in due diversi sistemi: *il sistema visivo formante l'immagine*, ovvero la percezione cosciente delle immagini e il *sistema visivo non-formante l'immagine*, che riguarda le funzioni indipendenti da una percezione cosciente, come la regolazione dei ritmi circadiani e il riflesso fotomotore. Il sistema non-formante l'immagine si basa quasi esclusivamente sull'attività di una specifica classe di cellule multipolari scoperta nel 1998, le **Melanopsin RGCs** o ipRGCs (*intrinsically photosensitive Ganglion Cell Photoreceptors*), cellule ad ampio campo di ricezione e scarsamente ramificate (Berson *et al.*, 2002; Güler *et al.*, 2008; Hattar *et al.*, 2002), le quali si estendono fino al nucleo ipotalamico soprachiasmatico (Ecker *et al.*, 2010). Il nucleo soprachiasmatico rappresenta, nei mammiferi, il principale centro di controllo circadiano e queste particolari cellule multipolari contribuiscono alla regolazione dei ritmi fisiologici e comportamentali, trasmettendo l'informazione dell'alternanza dei cicli buio/luce (Freedman *et al.*, 1999). Le **Melanopsin RGCs** ricevono stimoli dalle cellule amacrine e dalle cellule bipolari dei coni, ma, grazie alla presenza del pigmento melanopsina, esse possono rispondere ai cambiamenti di luce indipendentemente dagli input ricevuti dalle altre cellule. Per le loro peculiari caratteristiche, nonostante

rappresentino solo l'1-3% dell'intera popolazione delle cellule multipolari, queste cellule hanno avuto diritto a una classificazione a sé (Lucas *et al.*, 1999). Le *Melanopsin RGCs* formano sinapsi con il nucleo oculomotore parasimpatico, il nucleo di Edinger-Westphal, entrando dunque nel controllo del PLR; la loro esistenza permette di spiegare, infatti, la presenza del riflesso fotomotore anche in corso di degenerazione avanzata di coni e bastoncelli, distacco retinico e altre retinopatie (Lucas *et al.*, 2003).

Esame cardine della visita neurooftalmologica —nonché oggetto dello studio— è proprio la valutazione del Riflesso Pupillare Fotomotore o *Pupillary Light Reflex (PLR)*, un riflesso generato dalla stimolazione luminosa della retina, risultante in una contrazione della pupilla ipsilaterale (PLR diretto) e della controlaterale (PLR indiretto o consensuale). All'espressione del riflesso fotomotore partecipano due sistemi distinti: l'attivazione del sistema fotorecettori-cellule multipolari e l'attivazione delle cellule multipolari contenenti melanopsina (*Melanopsin RGCs*) (Güler *et al.*, 2008; Hatori *et al.*, 2008; Martin *et al.*, 2001).

La valutazione del PLR è eseguita esponendo l'occhio in esame a una luce bianca, brillante e focale, osservando quindi la risposta, fisiologicamente pressoché immediata, di entrambi gli occhi. È uno stimolo che compare molto precocemente dopo la nascita, al momento dell'apertura degli occhi

—ovvero a 10-16 giorni nei cuccioli e 5-14 giorni nei gattini, pur mostrandosi più rallentato fino al completamento dello sviluppo retinico, che nel cucciolo avviene circa al ventottesimo giorno di vita (Lavelly, 2006).

La *via afferente* del riflesso è costituita dal nervo ottico, ricevente lo stimolo da coni e bastoncelli, il quale, superato il chiasma ottico, contrae sinapsi bilateralmente con i neuroni dei nuclei della regione pretettale, situata tra il diencefalo e il mesencefalo (Hultborn *et al.*, 1978). Poiché molti degli assoni dei nuclei pretettali si incrociano e creano sinapsi a livello mesencefalico con i nuclei parasimpatici controlaterali, l'informazione è trasmessa bilateralmente da ciascun occhio; ciò consente un restringimento pupillare in risposta alla luce in entrambi gli occhi, anche quando solo uno viene direttamente stimolato (Kozicz *et al.*, 2011). Lungo la via afferente si verificano due decussazioni delle fibre nervose, una a livello del chiasma ottico e la seconda alla fuoriuscita delle fibre dai nuclei pretettali; nelle specie in cui più del 50% delle fibre assonali decussa a livello del chiasma ottico, si osserva una percentuale simile di fibre che nuovamente incrocia tornando ipsilaterale e ciò determina una risposta più evidente del riflesso diretto rispetto al consensuale (Samuelson, 2007; Shamir & Ofri, 2007). La *via efferente* è costituita dai nuclei pretettali (ipsi- e controlaterali) e dalle fibre nervose parasimpatiche del nervo oculomotore. Il riflesso fotomotore

indiretto è presente solo in quelle specie con una decussazione parziale delle fibre del nervo ottico a livello chiasmatico (33% delle fibre nel gatto, 75% nel cane) (Shamir & Ofri, 2007). Il *muscolo effettore* dell'arco riflesso è lo sfintere dell'iride, la cui contrazione, come già detto, provoca miosi.

L'esame del PLR permette una valutazione del corretto funzionamento di retina, II paio di nervi cranici (nervo ottico), mesencefalo e III paio di nervi cranici (nervo oculomotore). Tra i fattori —non dipendenti dalle strutture sopracitate— che possono causare una riduzione della risposta del PLR ci sono: insufficiente intensità della fonte luminosa, paura, atrofia dell'iride, sinechie posteriori e azione farmacologica di agenti midriatici; la presenza di cataratta, per quanto estesa, non influenza significativamente il riflesso (Gelatt *et al.*, 2013).

Una risposta peculiare alla stimolazione del PLR, comune a tutte le patologie causa di interferenza nella componente afferente della conduzione dello stimolo, è nota come *pupillary escape*. Sebbene siano inizialmente presenti sia la risposta diretta sia la consensuale, la contrazione pupillare non può essere mantenuta e la pupilla lentamente torna a dilatarsi, nonostante sia perpetuata la stimolazione luminosa. Il fenomeno dell'*escape* si osserva in corso di patologie riguardanti la retina o il nervo ottico (Duke-Elder, 1938).

Stimoli diversi dalla scarsa luminosità ambientale in grado di determinare midriasi sono l'improvviso dolore somatico, l'asfissia e gli stati d'ansia. La dilatazione del foro pupillare è scatenata da una stimolazione del sistema nervoso simpatico o da un'inibizione del sistema nervoso parasimpatico (Toyoshima *et al.*, 1980). Da studi effettuati sul gatto, sono state individuate quattro vie nervose responsabili della dilatazione pupillare: una via eccitatoria discendente dall'ipotalamo, che crea sinapsi con i neuroni delle colonne intermedio-laterali cervico-toraciche; una via inibitoria discendente dall'ipotalamo, che crea sinapsi con il nucleo di Edinger-Westphal; una via ascendente inibitoria che parte dalla formazione reticolare e, infine, una via ascendente inibitoria che origina dal corno dorsale, le quali giungono anch'esse a livello del nucleo di Edinger-Westphal (Loewy *et al.*, 1973).

Lo *swinging flashlight test* rappresenta un ulteriore esame di approfondimento del PLR e consiste nell'osservazione della reazione pupillare al cambio di illuminazione. Una fonte di luce focale viene fatta rapidamente e ripetutamente passare da un occhio all'altro, causando una miosi più pronunciata nella pupilla direttamente illuminata e una contrazione parziale nella controlaterale, ovvero un rapido passaggio dal riflesso fotomotore diretto al consensuale e viceversa. Se la pupilla sottoposta

a stimolazione luminosa diretta si dilata, anziché manifestare l'attesa risposta di miosi, si parla di *swinging flashlight test* positivo, come avviene in corso di lesioni unilaterali pre-chiasmatiche, coinvolgenti dunque la retina e/o il nervo ottico (Pearce, 1996). Tali lesioni non impediscono la risposta del riflesso fotomotore consensuale quando l'occhio controlaterale viene stimolato. Questo test si rivela particolarmente utile nella diagnosi differenziale tra una lesione unilaterale pre-chiasmatica e le altre cause neurologiche di anisocoria, in cui l'esame risulta negativo. Lo *swinging flashlight test* deve essere considerato positivo anche se, facendo passare la luce dall'occhio normale all'occhio patologico, la stimolazione luminosa diretta non risulta sufficiente a mantenere il grado di costrizione pupillare precedentemente evocato; questa situazione si verifica nei casi di anisocoria solitamente presenti negli animali domestici in corso di patologie del nervo ottico (Scagliotti, 1999).

Valutazione colorimetrica del PLR

Per differenziare il riflesso fotomotore mediato dal sistema coni-bastoncelli da quello mediato dalle *Melanopsin RGCs*, è necessario introdurre un ulteriore esame di approfondimento: la valutazione colorimetrica del PLR. Il PLR fotorecettore-mediato è caratterizzato da una trasmissione rapida del segnale, un'insorgenza immediata e una sensibilità

anche a scarsi livelli di intensità luminosa; viene evocato da una fonte luminosa di colore rosso. Il PLR melanopsina-mediato ha una trasmissione più lenta, un'insorgenza ritardata, necessita di elevate intensità luminose ed è evocato da una luce di colore blu (Grozdanic *et al.*, 2007). La luce rossa (lunghezza d'onda 620-630 nm) rientra nello spettro di percezione della rodopsina e dell'opsina del cane, attivandole (Neitz *et al.*, 1989; Jacobs *et al.*, 1993); la melanopsina, il cui spettro di sensibilità delle lunghezze d'onda termina a 580 nm, non viene stimolata da questo tipo di luce. La luce blu, al contrario, ha una lunghezza d'onda di 480 nm e stimola un picco di attività della melanopsina, il quale risulta in un'attivazione delle cellule multipolari senza la partecipazione del sistema coni-bastoncelli (Grozdanic *et al.*, 2007).

La valutazione colorimetrica del PLR inizia con la stimolazione tramite luce rossa, dopo un periodo di adattamento al buio di almeno 30 secondi; l'intensità con cui la luce viene emessa è di 200 Kcd/m². La fonte luminosa viene posta a circa 2,5 cm dall'occhio in esame per un massimo di 10 secondi, osservando le variazioni del diametro pupillare. Se si osserva una miosi completa (diametro inferiore ai 4 mm) nell'occhio stimolato in un tempo inferiore ai 10 secondi, la fonte luminosa può essere allontanata non appena essa si manifesta. Dopo un nuovo periodo di adattamento al buio di 30 secondi, la stimolazione con la luce rossa viene effettuata anche

sull'occhio controlaterale. Lo stesso tipo di procedura deve essere eseguito per la valutazione con la luce blu (intensità ottimale: 200 Kcd/m²) (Melan-100®, BioMed Vision Technologies, Instruction Manual).

In letteratura, viene riportato come la valutazione colorimetrica del PLR sia un esame molto utile come test di *screening* nella diagnosi delle alterazioni del fondo oculare causa di cecità o diminuzione della funzione visiva, grazie ai suoi ottimi parametri statistici (Grozdanic *et al.*, 2007):

- Sensibilità: 96,2%
- Specificità: 100%
- Valore Predittivo Positivo: 100%
- Valore Predittivo Negativo: 90,9%
- Tasso di Falsi Negativi: 3,8%
- Tasso di Falsi Positivi: 0%

Nonostante questi dati, la valutazione colorimetrica del PLR non può rappresentare l'esame diagnostico elettivo in corso di alterazioni del fondo oculare, in quanto non permette una diagnosi differenziale definitiva tra le patologie di ordine oftalmologico e neurologico, per la quale spesso si rendono necessari ulteriori esami di approfondimento, come la Risonanza Magnetica (RMN) e la Elettroretinografia (ERG). Il vantaggio della valutazione colorimetrica del PLR è rappresentato dalla praticità clinica,

essendo un esame rapido, indolore e che non necessita di una sedazione o di un'anestesia generale del soggetto in esame (Terakado *et al.*, 2012).

Elettroretinografia

L'elettroretinografia, sebbene non sia una procedura effettuata di routine durante la visita oculistica, rappresenta l'esame elettrodiagnostico maggiormente utilizzato nella pratica veterinaria per la valutazione della funzionalità retinica, misurando i potenziali elettrici generati dalle diverse componenti cellulari, ovvero fotorecettori (coni e bastoncelli), cellule bipolari e cellule di Müller. Ciononostante, l'ERG non può essere considerato un esame in grado di valutare la capacità visiva del paziente, non essendo influenzabile dalle alterazioni dei mezzi diottrici, potenzialmente causa di deficit visivo (Acland, 1988). Questa caratteristica lo rende un test di fondamentale importanza nella valutazione della funzionalità retinica nei soggetti con cataratta candidati all'intervento chirurgico; in questi pazienti, infatti, l'opacamento del cristallino impedisce l'esame diretto del fondo oculare. Un altro campo di applicazione dell'ERG è quello della diagnosi precoce delle malattie retiniche, come PRA e SARDs, quando all'esame oftalmoscopico non sono rilevabili alterazioni del fondo.

La stimolazione luminosa della retina genera una risposta elettrica diffusa delle cellule dello strato dei fotorecettori e delle cellule bipolari, un insieme di potenziali elettrici scatenati dalla movimentazione di ioni, in particolare sodio e potassio, attraverso lo spazio extracellulare (Gouras, 1970). L'intensità, la durata, la frequenza e la lunghezza d'onda dello stimolo luminoso, l'intervallo tra gli stimoli, l'estensione della porzione di retina stimolata, il diametro pupillare e, in particolar modo, l'adattamento al buio che precede l'esame sono le principali variabili che possono influenzare il tracciato. Altri fattori che possono interferire con la valutazione sono il protocollo anestesiológico, l'efficienza dell'apparecchiatura, l'esperienza dell'esaminatore, la specie, la razza e l'età del paziente (Acland, 1988). L'European College of Veterinary Ophthalmologists (ECVO) ha fornito delle linee guida per la corretta procedura di esecuzione dell'ERG nella pratica clinica del cane; in particolare sono descritti due diversi tipi di protocollo, in base al comune uso diagnostico dell'apparecchio: un protocollo breve, che permette di esaminare la presenza o l'assenza della risposta retinica, principalmente utilizzato per la valutazione preoperatoria di chirurgia della cataratta; un protocollo più complesso e di approfondimento, che permette la valutazione differenziata di coni e bastoncelli, per la diagnosi esatta delle diverse forme di degenerazione retinica ereditaria (Narfström *et al.*, 2002).

Il tracciato elettroretinografico ottenuto è il risultato dell'insieme dei potenziali d'azione generati, pertanto l'analisi delle sue parti permette di valutare la risposta specifica delle diverse popolazioni cellulari. Le tre componenti principali del tracciato elettroretinografico sono l'onda a, l'onda b e l'onda c (Granit, 1933); l'**onda a** è la rappresentazione grafica della variazione negativa di carica elettrica intracellulare dei fotorecettori — ovvero l'iperpolarizzazione— evocata dalla stimolazione luminosa, con conseguente chiusura dei canali di membrana del sodio. L'iperpolarizzazione di membrana determina un diminuito rilascio del neurotrasmettitore che, a sua volta, è responsabile dell'attivazione delle cellule bipolari. L'ampiezza dell'onda a è misurata a partire dal pre-stimolo basale fino al punto di massima depressione (Kang Derwent & Linsenmeier, 2001). Per decenni si è ritenuto che l'evento principalmente responsabile dell'**onda b** fosse la depolarizzazione delle cellule di Müller; da studi più recenti è emerso, invece, un ruolo diretto da parte delle cellule bipolari responsabili della depolarizzazione delle cellule di Müller, piuttosto che dal flusso di ioni potassio proveniente da queste ultime (Kofuji *et al.*, 2000). Per convenzione, l'ampiezza dell'onda b è misurata a partire dal punto di maggior depressione dell'onda a fino al suo picco massimo. L'**onda c** è il risultato di una iperpolarizzazione temporanea della membrana apicale delle cellule dell'epitelio retinico pigmentato e delle cellule di Müller in

risposta alla luce; quest'onda generalmente non è considerata nei protocolli clinici veterinari, in quanto la sua presenza è incostante e nel cane si riscontra solo in una frazione di cani adulti sani (Dawson & Kommonen, 1995).

La strumentazione necessaria all'esecuzione del test è rappresentata da tre elettrodi, una lampada allo xenon in grado di emettere flash luminosi e un apparecchio di registrazione. Gli elettrodi registrano i cambiamenti elettrici generati a livello retinico dalla stimolazione luminosa: un elettrodo attivo, direttamente in contatto con la cornea e un elettrodo di riferimento (passivo), in contatto con il margine palpebrale oppure applicato sottocute a livello temporale, almeno a 2 cm dal canto laterale; il posizionamento dell'elettrodo di riferimento a distanza maggiore, fino a 5 cm, determina un incremento dell'ampiezza della risposta (Mentzer *et al.*, 2005). Infine, un elettrodo di base può essere posizionato indifferentemente in diversi punti, generalmente, per convenzione, all'apice del cranio, in corrispondenza dell'osso frontale. L'elettrodo attivo a contatto con la cornea permette di ottenere un tracciato con ampiezze molto maggiori rispetto a un elettrodo attivo sottocutaneo (Steiss *et al.*, 1992). In aggiunta, l'elettrodo a contatto con la cornea ne permette la protezione dall'essiccamento durante la procedura, poiché tra esso e la superficie corneale viene interposta una soluzione ionica

o salina oppure un gel vischioso, a seconda del tipo di elettrodo utilizzato (Acland, 1988). La fonte luminosa deve essere progettata in modo da fornire una stimolazione omogenea dell'intera retina, la durata del singolo stimolo luminoso non deve superare i 5 ms (Marmor *et al.*, 2009) e la massima intensità luminosa, utilizzata nel protocollo standard, è di 2-3 cd/m²/s (Narfström *et al.*, 2002). I segnali elettrici generati dalla retina sono a bassa tensione (spesso inferiore ai 10⁻¹ mV) e necessitano di un'amplificazione di circa 10⁴ volte per poter essere visualizzati; i dati sono acquisiti da un sistema computerizzato che, negli ultimi decenni, ha sostituito l'oscilloscopio (Narfström, 2002).

Prima dell'esecuzione dell'esame elettroretinografico, il paziente deve essere opportunamente preparato. La miosi pupillare riduce la quantità di luce che penetra all'interno dell'occhio e, dunque, in grado di stimolare la retina, con diminuzione della risposta e risultati assimilabili ad alterazione retinica falsi positivi; per ovviare a questo inconveniente, durante la preparazione, viene applicato un midriatico topico, per ottenere una buona dilatazione pupillare durante l'esecuzione dell'esame. Il campo visivo del paziente non deve essere oscurato dalla protrusione della terza palpebra. Per far sì che il paziente rimanga nella posizione desiderata per il tempo dovuto, affinché l'applicazione degli elettrodi sia corretta e gli artefatti dovuti ai movimenti

del paziente siano minimizzati, nella pratica veterinaria è necessario applicare un protocollo di anestesia generale (Lin *et al.*, 2009). Un'opportuna ossigenazione è fondamentale per l'ottenimento di risultati attendibili e riproducibili; uno studio sugli effetti dell'ipossiemia in corso di elettroretinografia nel cane ha riportato alterazioni soprattutto a carico dell'onda b, con diminuzione dell'ampiezza e aumento del tempo di latenza per una pressione parziale di ossigeno di 45 mm Hg (Howard & Sawyer, 1975). L'onda a risulta essere meno influenzabile, anche in corso di ipossiemia grave, rimanendo presente anche dopo completa estinzione dell'onda b. Al contrario, l'iperventilazione del cane anestetizzato determina un aumento dell'ampiezza dell'onda b, effetto attribuito alla diminuzione dell'anidride carbonica ematica (Murray & Borda, 1984).

Coni e bastoncelli contribuiscono alla diffusione del segnale elettroretinografico in modo indipendente gli uni dagli altri. Prima dell'esecuzione dell'esame, il cane viene posto in ambiente privo di luce — adattamento al buio— per almeno 20 minuti ed è consigliato non esporre il paziente a fonti di luce intensa per almeno 1 ora prima dell'inizio del test (Tuntivanich *et al.*, 2005). Dopo questo adattamento, il sistema dei bastoncelli possiede la massima capacità di rispondere adeguatamente alla stimolazione luminosa; effettuando l'esame, al contrario, senza l'adattamento

al buio mantenendo il paziente in ambiente luminoso, la risposta che si otterrà sarà quasi esclusivamente mediata dal sistema dei coni (Gouras, 1965; Narfström *et al.*, 1995).

Capitolo IV

Le principali patologie oculari responsabili di alterazione del PLR

Le strutture coinvolte nell'espressione del riflesso fotomotore sono, come già discusso, la retina, il nervo ottico lungo tutto il suo decorso, i nuclei della regione pretettale, le fibre nervose parasimpatiche del nervo oculomotore e il muscolo sfintere dell'iride. Si rende quindi evidente come qualsiasi alterazione a una delle componenti l'arco riflesso vada necessariamente ad alterarne la risposta. Per quanto concerne le più importanti patologie riguardanti, essenzialmente, la componente oftalmica, si elencano:

- Distacco retinico
- Degenerazione Retinica Ereditaria
- Retiniti e Corioretiniti
- SARDs
- Glaucoma

Distacco retinico

Varie condizioni patologiche dell'occhio possono causare un distacco retinico focale, multifocale o totale. Un distacco focale interessa un'area ridotta della retina e spesso non si manifesta con alterazioni della funzione visiva clinicamente rilevabili. Quando il distacco riguarda aree più estese, la retina neurosensoriale si assottiglia e si possono creare lacerazioni, soprattutto nella zona periferica (Blair *et al.*, 1985a). La perdita dell'integrità strutturale è associata alla perdita della funzione e a una degenerazione retinica secondaria nell'area colpita: in mancanza del nutrimento fornito dalla coriocapillare e del supporto metabolico dell'epitelio retinico pigmentato, lo strato dei fotorecettori va incontro ad atrofia. A seguito del distacco, in particolare nella sua forma completa, la retina può subire uno spostamento anteriore e può essere osservata direttamente attraverso il foro pupillare, con una fonte di luce focale, senza altri particolari strumenti di ingrandimento. All'esame del fondo oculare, in corso di distacco totale, la retina rimane ancorata a livello dell'*ora serrata* (punto di giunzione tra retina e corpo ciliare) e della papilla ottica, grazie agli assoni delle cellule multipolari convergenti dalla retina al nervo ottico. La retina forma delle pieghe, come fosse un drappo grigiastro sospeso nel vitreo e il *tapetum lucidum*, non più coperto dalla retina, appare iper riflettente. In corso di

distacco parziale con lacerazioni retiniche, la coroide esposta e l'epitelio retinico pigmentato sono direttamente osservabili attraverso le zone alterate (Gelatt et al., 2013).

Eziologicamente i distacchi retinici possono suddividersi in regmatogeni, da trazione, essudativi e displasici. Il **distacco retinico regmatogeno** si sviluppa secondariamente a partire da difetti o lacerazioni focali della neuroretina, i quali consentono al liquido vitreale di infiltrarsi tra questa e l'epitelio retinico pigmentato, separandoli ed esacerbando la lesione iniziale. Il distacco regmatogeno è il più frequente nel cane ed è associato ad altre patologie oculari, quali CEA (*Collie Eye Anomaly*), traumi oculari, patologie del cristallino e glaucoma (Hendrix *et al.*, 1993).

Il **distacco retinico da trazione** è generato da una forza proveniente dal corpo vitreo —ad esempio, un'emorragia organizzata— che tira anteriormente la neuroretina, causandone la separazione dall'epitelio retinico pigmentato.

In risposta a diverse patologie flogistiche della sclera posteriore e della coroide (infettive e non-infettive), in corso di ischemia dell'epitelio retinico pigmentato, ipertensione sistemica o neoplasia della coroide con obliterazione dei vasi coroidali, si può verificare un accumulo di essudato nello spazio tra la retina neurosensoriale e l'epitelio retinico pigmentato,

causandone il distacco: **distacco retinico essudativo** (Gwin *et al.*, 1980c; Cullen *et al.*, 2000).

Il **distacco retinico displasico** compare, come suggerito dal nome, secondariamente a displasia. La displasia retinica può avere varie manifestazioni e patogenesi: sviluppo iperplastico della neuroretina, anche in siti anomali, in assenza di collegamento con l'epitelio retinico pigmentato; sviluppo di aree di neuroretina prive di epitelio retinico pigmentato; processi displasici focali o coinvolgenti ampie aree retiniche con distacco della retina dall'epitelio retinico pigmentato, associato o meno a displasia vitreale (Silverstein *et al.*, 1971; Vollmer & Layer, 1986).

In tempi relativamente recenti, è stato descritto un **distacco retinico steroideo-responsivo**: i cani affetti si presentano alla visita con un'anamnesi di perdita acuta della funzione visiva; il distacco è bilaterale, non-regmatogeno e, in alcuni casi, è presente una concomitante emorragia vitreale (Andrew *et al.*, 1997).

Alla visita neuroftalmologica un paziente con distacco retinico completo riporta un grave deficit visivo e la reazione di minaccia è assente (nel distacco parziale può essere presente, ma fortemente diminuita); il *dazzle reflex* è generalmente presente, all'esame del fondo oculare è possibile osservare i segni del distacco. All'esame obiettivo generale possono essere

presenti altri segni clinici sistemici, nei casi in cui il distacco retinico sia secondario a infezioni generalizzate o a patologie neoplastiche. Il tracciato elettroretinografico è ridotto nel distacco retinico parziale e del tutto piatto nel distacco retinico completo (Acland, 1988). Eseguendo la valutazione colorimetrica del PLR, alla luce rossa l'occhio in esame risponde con un riflesso ridotto e rallentato; frequentemente la pupilla si restringe in un primo momento per poi tornare a dilatarsi, pur persistendo la stimolazione luminosa (*escape*). Alla luce blu la pupilla risponde con una miosi completa, anche se ritardata, negli stadi iniziali del distacco, mentre successivamente si osserva una risposta incompleta con *escape* (Grozdanic *et al.*, 2007).

Degenerazione Retinica Ereditaria

Le degenerazioni retiniche ereditarie del cane possono coinvolgere primariamente i fotorecettori, l'epitelio retinico pigmentato o entrambi. Sotto il termine **PRA** (*Progressive Retinal Atrophy*) è riunito un gruppo eterogeneo di patologie ereditarie riscontrabili in molte razze (canine e feline), trasmesse tramite geni autosomici recessivi, eccezion fatta per il Siberian Husky e il Samoiedo in cui il gene coinvolto è *X-linked*, mentre nel Mastiff la trasmissione è autosomica dominante. Clinicamente è possibile suddividere le PRA in due sottogruppi, in base alle lesioni osservabili all'esame del fondo oculare: PRA generalizzata e PRA centrale (CPRA). Nel primo caso si osserva

una condizione di iper riflettività generalizzata della retina (allo stadio finale di sviluppo della patologia), il che sta a indicare un'atrofia riguardante tutta la neuroretina con conseguente cecità. Nella CPRA si formano dei depositi multifocali di pigmento nello spessore della retina con aloni periferici di iper riflettività, si tratta di un difetto primario dell'epitelio retinico pigmentato e spesso non conduce a cecità (Bedford, 1984). Il termine CPRA è stato recentemente sostituito con RPED (*Retinal Pigment Epithelial Dystrophy*).

Le PRA possono essere ulteriormente suddivise in patologie dello sviluppo e degenerative; le **patologie dello sviluppo** sono un numeroso gruppo di distinte alterazioni genetiche, le quali vengono espresse durante il periodo post natale, quando i vari elementi cellulari retinici cominciano a differenziarsi. Queste alterazioni determinano, come risultato finale, forme displasiche dei coni, dei bastoncelli o di entrambi (Acland *et al.*, 1989; Parshall *et al.*, 1991), le quali si manifestano tipicamente prima del completamento dello sviluppo retinico (che, nel cane, avviene intorno alle 8 settimane) (Gum *et al.*, 1984).

Al contrario le **forme degenerative** sono caratterizzate da alterazioni dei fotorecettori e/o dell'epitelio retinico pigmentato dopo una differenziazione e uno sviluppo perfettamente normali, l'insorgenza quindi è più lenta e i

segni clinici si manifestano in una finestra temporale che va dai 6 mesi agli 8 anni di età (Narfström & Ekesten, 1999).

Le manifestazioni cliniche dei differenti tipi di degenerazione retinica sono pressoché sovrapponibili, si sviluppano bilateralmente e portano sempre, nel corso dell'evoluzione della patologia, a cecità. Deficit visivi, anche severi, spesso sono mascherati dalla familiarità dell'animale con l'ambiente in cui vive, che gli permette un buon orientamento nonostante la progressiva perdita della funzione visiva (Rubin, 1989). Il segno clinico più comune, all'insorgenza della patologia, è rappresentato da una cecità alla luce crepuscolare (cecità notturna), in quanto i primi recettori a essere coinvolti sono spesso i bastoncelli; nelle forme in cui a essere coinvolti sono primariamente i coni, al contrario, il primo segno a comparire è una cecità diurna (Gelatt *et al.*, 2013). All'esame del fondo oculare, si osservano precocemente alterazioni della riflettività tappetale, in particolare un'iporiflettività caratterizzata da una decolorazione grigiastra, soprattutto a partire dalle zone periferiche. Col progredire della patologia, le variazioni di colore del fondo tappetale diventano più evidenti e generalizzate, così come l'assottigliamento dei vasi retinici. Nelle forme moderatamente avanzate si assiste invece a una progressiva iper riflettività, segno evidente di atrofia e assottigliamento retinico, che man mano coinvolge l'intero fondo tappetale;

in concomitanza, possono essere osservate delle aree di depigmentazione del fondo non tappetale, svelando così l'assottigliamento della retina anche a questo livello. L'assottigliamento vascolare si fa sempre più evidente fino a rendere possibile l'osservazione, negli stadi più avanzati, dei soli contorni vascolari, che prendono il nome di "vasi fantasma". La papilla ottica spesso diventa pallida e i suoi bordi si fanno indistinti, a causa della perdita dell'efficienza circolatoria retinica e della degenerazione del tessuto nervoso, risultante in una demielinizzazione. L'epitelio retinico pigmentato, responsabile della fagocitosi dei fotorecettori e dei neuroni degenerati, va incontro secondariamente a ipertrofia, iperplasia e metaplasia. Alterazioni vitreali e cataratta secondaria spesso si sviluppano negli stadi avanzati della patologia (Charles, 2010). Le diagnosi differenziali sono rappresentate da diverse patologie acquisite, spesso difficilmente distinguibili dalla PRA —se non istologicamente— e includono: deficienze nutrizionali da vitamina E e vitamina A, tossicosi causate da farmaci (come i fluorochinoloni e gli aminoglicosidi), tossicosi causate da piante (a esempio le felci del genere *Pteridium* e le leguminose del genere *Astragalus*), fototossicità, radiazioni e le *Sudden Acquired Retinal Degeneration syndrome* (SARDs) (Kuwabora & Gorn, 1968; Lanum, 1978; Buyukmichi, 1981b; Peiffer *et al.*, 1981; Roberts *et al.*, 1987; Jamieson *et al.*, 1991; Van Der Woerdt *et al.*, 1991; Sadda *et al.*, 1994; Miller *et al.*, 1998).

Alla visita oculistica le ridotte capacità visive, al buio o alla luce, possono essere testate con la reazione di minaccia, il *cotton ball test* (dei batuffoli di cotone vengono fatti cadere dall'alto verso il basso da entrambi i lati della testa dell'animale) e il test di labirinto (viene creato un percorso a ostacoli in cui far passare il cane, sia alla luce sia al buio) (Gearhart *et al.*, 2008). Il PLR appare rallentato e la pupilla si presenta generalmente midriatica alla luce ambientale, mentre il *dazzle reflex* è presente. Alla valutazione colorimetrica del PLR con luce rossa la pupilla risponde con un riflesso rallentato ed è frequente il fenomeno dell'*escape*, con la luce blu negli stadi iniziali della patologia la miosi risulta completa, seppur rallentata, mentre negli stadi avanzati il riflesso è incompleto ed è frequente il fenomeno dell'*escape* (Grozdanic *et al.*, 2007). Il tracciato elettroretinografico può apparire alterato molto precocemente nell'ampiezza e nella latenza, prima dell'insorgenza di alterazioni del fondo clinicamente osservabili, per poi divenire piatto con il progredire della patologia (Acland, 1988; Narfström *et al.*, 2002).

Retiniti e Corioretiniti

Alterazioni flogistiche del fondo oculare sono comuni nel cane, ma il coinvolgimento retinico è spesso secondario a processi patologici a carico della coroide o, in alcuni casi, del corpo vitreo, mentre l'insorgenza di

retiniti primarie è rara. Con il termine **corioretinite** si indica un'inflammazione che origina dalla coroide, al contrario si indica **retinocoroidite** un'inflammazione primariamente retinica; anche l'uvea anteriore può essere coinvolta nel processo, come in corso di panuveite (inflammazione dell'intero tratto uveale), endoftalmite (inflammazione delle strutture interne dell'occhio) e panoftalmite (inflammazione dell'intero globo oculare). Il processo infiammatorio locale può essere accompagnato da altri segni di flogosi sistemica, pertanto si rende necessario un esame obiettivo generale del paziente. La corioretinite può avere cause diverse: infettiva, neoplastica, traumatica, da corpo estraneo. Sia nelle forme infettive sia in quelle neoplastiche, l'occhio può essere sede primaria della lesione oppure essere colpito solo secondariamente in corso di patologie sistemiche. In molte circostanze non è possibile identificare l'esatta eziologia del processo flogistico (Narfström & Peter-Jones, 2013). Un'inflammazione acuta della retina, con o senza il coinvolgimento della coroide, all'esame del fondo oculare si manifesta con segni clinici variabili (Albert, 1970; Rubin, 1974). Il processo può essere monolaterale o bilaterale e le alterazioni hanno solitamente aspetto e forma irregolari; a differenza delle forme di degenerazione retinica ereditaria, le lesioni flogistiche non sono mai bilateralmente simmetriche e non è infrequente avere, quando sono colpiti entrambi gli occhi, due diversi gradi di sviluppo della patologia.

Ciononostante, alcune condizioni non infiammatorie (a esempio, la displasia retinica geografica) possono avere caratteristiche simili alla forma infiammatoria e devono, pertanto, essere considerate nella diagnosi differenziale. La forma acuta è caratterizzata dalla presenza di: manicotti grigio-biancastri perivascolari, dovuti all'accumulo di cellule infiammatorie; edema retinico; lesioni infiltrative dell'area tappetale, dall'aspetto iporiflettente e grigiastro, o dell'area non tappetale, bianco-grigiastre; emorragie, nei processi infiammatori più gravi, soprattutto a eziologia infettiva (comuni, ad esempio, nelle infezioni da rickettsie); distacco retinico, per accumulo di essudato tra l'epitelio retinico pigmentato e la neuroretina. Alterazioni acute dell'epitelio retinico pigmentato spesso non sono visibili, in quanto mascherate dagli altri segni di infiammazione (Audo *et al.*, 2006). Nelle infezioni fungine causa di corioretinite possono essere presenti lesioni di tipo granulomatoso (Kurtz & Finco, 1970). La papilla ottica può essere coinvolta nel processo infiammatorio e apparire edematosa ed emorragica nelle forme acute, atrofizzata in fase cronica. In corrispondenza delle lesioni, con il progredire della patologia, si assiste alla proliferazione di elementi cellulari del tessuto connettivo, con l'organizzazione del processo cicatriziale esitante nella formazione di "pieghe" retiniche; anche l'epitelio retinico pigmentato partecipa attivamente al processo riparativo, diventando ipertrofico e iperplastico in corrispondenza delle aree alterate.

Nell'infiammazione cronica, le aree di neuroretina andate incontro ad atrofia appaiono iper riflettenti e ben delimitate, il colore dell'area tappetale può essere alterato oppure possono essere presenti lacerazioni retiniche, le quali lasciano esposti i vasi coroidali e la sclera. Le lesioni cronicizzate dell'area non tappetale appaiono depigmentate, i vasi retinici possono essere pallidi o tortuosi, mentre i vasi coroidali, quando visibili, appaiono atrofizzati o del tutto assenti (Narfström & Peter-Jones, 2013).

Una particolare forma infiammatoria della retina è rappresentata dalla **retinite immunomediata (IMR)**, caratterizzata da una perdita completa o solamente notturna della funzione visiva a insorgenza improvvisa e per questo, nonostante alcuni tratti caratteristici, spesso difficile da differenziare dalla SARDs. La patogenesi della forma immunomediata nel cane è in realtà sconosciuta, viene definita tale per la somiglianza dei segni clinici presenti nell'uomo nelle retinopatie anticorpo-mediate. Nella retinite immunomediata la perdita della funzione visiva è spesso preceduta, nei mesi o anni antecedenti l'insorgenza, da stati temporanei di diminuzione del *visus*, soprattutto alla luce crepuscolare. Spesso i pazienti affetti presentano in anamnesi alterazioni del foro pupillare, con episodi di dilatazione all'esposizione luminosa o pupille anisocoriche. In alcuni pazienti (circa il 20% degli affetti) possono essere presenti altre patologie concomitanti di

natura neurologica o forme neoplastiche locali. L'esame del fondo oculare rivela un quadro caratteristico di alterazioni di colore della papilla ottica e attenuazione della vascolarizzazione (Grozdanic *et al.*, 2008).

Alla visita neurooftalmologica, in presenza di retiniti e corioretiniti, la reazione di minaccia può essere fortemente diminuita o assente, mentre il *dazzle reflex* è generalmente presente ma può scomparire delle forme infiammatorie gravi.

Effettuando la valutazione colorimetrica del PLR, con luce rossa la risposta è molto diminuita e rallentata, frequentemente seguita da *escape*; con luce blu la risposta può essere presente (in modo completo ma rallentato) nelle fasi iniziali del processo infiammatorio, per poi divenire incompleta e con *escape* evidente nel progredire della patologia (Grozdanic *et al.*, 2007). I risultati dell'esame elettroretinografico sono piuttosto variabili, il tracciato può apparire normale, ridotto o aumentato in ampiezza (Acland, 1988; Grozdanic *et al.*, 2007).

SARDs

La SARDs (*Sudden Acquired Retinal Degeneration syndrome*) è una patologia retinica idiopatica caratterizzata da cecità completa a insorgenza improvvisa, in assenza di alterazioni visibili del fondo oculare (negli stadi

iniziali) o segni clinici suggestivi di patologia sistemica (Acland *et al.*, 1984; Miller *et al.*, 1998). La prevalenza è la stessa in tutte le razze —inclusi i meticci— ed è più alta nei soggetti adulti. La perdita della funzione visiva è tipicamente acuta e i tempi di insorgenza riportati in letteratura variano da poche ore (Zara & Darricau, 2008) a qualche giorno (Miller *et al.*, 1998; Goulle, 2010) fino a una o due settimane (Van Der Woerdt *et al.*, 1991; Mattson *et al.*, 1992; Cullen & Graham, 2002).

Molti pazienti presentano in concomitanza altri segni clinici, in particolare poliuria e polidipsia (28–36% dei casi), polifagia (39%) e aumento del peso corporeo (57%) (Carter *et al.*, 2009). Una percentuale che va dal 12 al 17% dei pazienti presenta un profilo ormonale compatibile con la sindrome di Cushing (Mattson *et al.*, 1992; Carter *et al.*, 2009), ma ulteriori indagini diagnostiche permettono di escludere un disturbo endocrino primario. Queste alterazioni sono state interpretate come secondarie a un innalzamento dei livelli di cortisolo ematico, a seguito di una condizione di forte stress e disorientamento dell'animale, determinata dall'insorgenza improvvisa della perdita della funzione visiva (Mattson *et al.*, 1992).

In uno studio condotto su 13 cani affetti da SARDs, sono state valutate le concentrazioni di progesterone, 17-idrossiprogesterone, androstenedione, testosterone, estradiolo e cortisolo; la ricerca ha evidenziato un aumento di

uno o più ormoni sessuali, soprattutto progesterone e 17-OH progesterone, nello 85% dei soggetti, mentre il 69% presentava livelli elevati di cortisolemia (Carter *et al.*, 2009). Alcuni progestinici hanno attività intrinseca sovrapponibile a quella dei glucocorticoidi e, pertanto, il progesterone in elevate concentrazioni aumenterebbe la biodisponibilità di cortisolo, sostituendosi ad esso nei legami con le proteine trasportatrici. I segni clinici compatibili con la sindrome di Cushing potrebbero, pertanto, non derivare da un vero e proprio iperadrenocorticismismo, bensì dagli effetti che un eccesso di cortisolo libero esercita sui vari organi e tessuti (Syme *et al.*, 2001).

Studi recenti, effettuati su cani affetti da SARDs, hanno svelato la presenza di plasmacellule producenti immunoglobuline all'interno della retina, il che ha permesso di ipotizzare un'eziologia di tipo autoimmune anticorpo-mediata; allo stesso tempo, è stata documentata anche un'elevata attività del sistema del complemento a livello retinico, la quale potrebbe rappresentare la causa ultima delle alterazioni (Grozdanic *et al.*, 2008).

L'ultima ipotesi eziologica riguarda l'azione del glutammato, una molecola eccitatoria in grado di determinare una prolungata depolarizzazione delle membrane plasmatiche fino all'apoptosi delle cellule gangliari, per le quali ha una tossicità preferenziale, nell'uomo (Miller *et al.*, 1998). Anche nei cani

affetti da SARDs è stata riscontrata un'elevata concentrazione di glutammato a livello vitreale, ma esso non sembra coinvolto nell'apoptosi dei fotorecettori, bersagli principali di questa patologia.

L'ipertensione sistemica è un altro sintomo spesso rilevato nel cane in corso di SARDs, ma ad oggi non è stata ancora chiarita l'eventuale associazione con alterazioni dell'asse ipofisi-surreni (Plummer *et al.*, 2007) o con altre patologie, spesso concomitanti nel cane adulto e anziano, come diabete mellito e nefropatie (Carter *et al.*, 2009).

La reazione alla minaccia in questi pazienti è sempre assente, mentre il *dazzle reflex* è mantenuto; le pupille si presentano in uno stato di midriasi ambientale e non manifestano il riflesso fotomotore con una fonte di luce bianca, eccezion fatta per gli stadi iniziali di malattia (Van Der Woerdt *et al.*, 1991). I segni oftalmoscopici, durante la fase acuta, sono minimi: è possibile osservare un'attenuazione dei vasi retinici, lieve edema retinico centrale e alcune irregolarità nel calibro vascolare; la papilla ottica può apparire sbiadita e possono essere presenti alterazioni della riflettività tappetale. Due mesi dopo l'insorgenza, le lesioni cominciano ad apparire più evidenti e con l'ulteriore progressione della patologia si osservano aree di iper riflettività tappetale estese, mentre i vasi retinici appaiono sempre più attenuati. L'aspetto del fondo, così descritto, non permette dunque di distinguere una

forma cronica di SARDs da una degenerazione retinica ereditaria, nel caso non sia riportato il dato anamnestico di cecità improvvisa (Van Der Woerdt *et al.*, 1991; Grozdanic *et al.*, 2008). Effettuando un esame istologico della retina si osservano alterazioni morfologiche riguardanti, inizialmente, lo strato dei fotorecettori (Riis, 1990; O'Toole *et al.*, 1992), con perdita del segmento esterno sia dei coni sia dei bastoncelli. I fotorecettori quindi vanno incontro ad apoptosi (Miller *et al.*, 1998), seguita da una lenta degenerazione di tutte le altre componenti cellulari della retina (corpi cellulari e processi dendritici delle cellule amacrine, bipolari e gangliari). Nelle forme croniche l'intera neuroretina appare degenerata e l'epitelio retinico pigmentato risulta assottigliato e privo dei processi apicali (Acland *et al.*, 1984; Vanisi *et al.*, 1985; Van Der Woerdt *et al.*, 1991; Miller *et al.*, 1998).

La valutazione colorimetrica del PLR è negativa con luce rossa, alla quale la pupilla non risponde, rimanendo in assoluta midriasi; il PLR melanopsina-mediato, stimolato dalla luce blu, appare invece completo (seppur, in alcuni casi, rallentato) dimostrando il mancato coinvolgimento delle *Melanopsin RGCs* (Grozdanic *et al.*, 2007). L'elettroretinografia rappresenta l'esame *gold standard* per la conferma di SARDs, permettendo la diagnosi differenziale con le cause centrali di perdita del *visus*: in corso di SARDs il tracciato

appare completamente piatto, a differenza delle patologie del SNC causa di cecità, delle patologie del nervo ottico o del chiasma ottico in cui il tracciato è solitamente normale (Acland, 1988; Grozdanic *et al.*, 2007).

Glaucoma

Con il termine “glaucoma” si fa riferimento a un gruppo di patologie oculari —causate da una varietà di fattori concomitanti— che presentano un aumento della **pressione intraoculare (IOP)**, la quale conduce a un danneggiamento dell’occhio *in toto* (Gelatt, 1991); in medicina veterinaria, una pressione intraoculare elevata rappresenta il principale fattore di rischio per lo sviluppo di glaucoma (Gelatt & Brooks, 1999). Dando una definizione più accurata di glaucoma canino, si tratta di un gruppo di patologie accomunate da aumento della IOP, diminuzione di sensibilità e funzione e, successivamente, morte delle cellule multipolari, atrofizzazione degli assoni del nervo ottico, alterazione delle dimensioni della papilla ottica e riduzione incrementale del campo visivo fino a cecità (Ofri *et al.*, 1994; Nickells, 1996; Gottanka *et al.*, 1997; Hernandez & Pena, 1997).

L’*umor acqueo* è un liquido limpido che riempie la camera oculare anteriore, è un mezzo diottrico trasparente e svolge un ruolo fondamentale nella regolazione della pressione intraoculare e nel trofismo del cristallino.

L'umor acqueo è prodotto a livello del *corpo ciliare* per ultrafiltrazione del sangue, riempie la camera posteriore e da essa passa in camera anteriore attraverso la pupilla; il drenaggio avviene a livello dell'*angolo irido-corneale*, attraverso il *legamento pettinato* e nel *trabecolato uveale*, confluendo infine nel plesso venoso episclerale. Il flusso dell'umor acqueo è determinato dalla differenza di pressione tra il liquido all'interno dell'occhio e il sangue venoso episclerale: l'equilibrio tra secrezione e assorbimento che ne deriva influenza fortemente la pressione intraoculare (Kiel *et al.*, 2011).

Le diverse forme di glaucoma nel cane possono essere classificate in base all'eziologia, all'aspetto gonioscopico e allo stadio di sviluppo della patologia stessa (Brooks *et al.*, 1997; Martin, 1993). Nel **glaucoma primario** l'aumento della pressione intraoculare è indipendente da altre patologie concomitanti, è una forma solitamente bilaterale, a trasmissione ereditaria in molte razze predisposte. Nel glaucoma primario l'aumento della IOP è dovuto al metabolismo biochimico anomalo delle cellule trabecolari oppure ad alterazioni dell'angolo irido-corneale. La displasia del legamento pettinato o la fusione di elementi adiacenti del legamento stesso, a formare una spessa membrana, sono comuni nel cane e spesso descritti nelle forme primarie ad angolo irido-corneale stretto o chiuso. Il glaucoma primario può essere,

infatti, ulteriormente classificato in base alla conformazione dell'angolo all'osservazione gonioscopica (angolo aperto o chiuso) (Bedford, 1975).

Le forme di **glaucoma congenito** sono rare nel cane e sono generalmente associate ad anomalie multiple del segmento anteriore e delle vie di deflusso dell'umor acqueo. Queste forme si presentano già nel neonato o nel cucciolo entro il sesto mese di vita e l'entità delle alterazioni influenza la rapidità di insorgenza dell'innalzamento pressorio: anomalie più marcate sono responsabili di innalzamenti della IOP più gravi e precoci (Smith *et al.*, 1993; Strom *et al.*, 2011b).

Il **glaucoma secondario** si sviluppa come conseguenza di altre patologie oculari, causa di ostruzione meccanica del deflusso dell'umor acqueo; in particolare può essere secondario a: cataratta e chirurgia della cataratta, lussazione del cristallino, uveiti, ifema e neoplasie intraoculari. Trattandosi di una forma secondaria ad altre patologie, tende a presentarsi monolateralmente e non si trasmette per via ereditaria (anche se ciò può avvenire per la malattia primaria, come nel caso di cataratta e lussazione del cristallino) (Strom *et al.*, 2011a). Nel cane, le forme glaucomatose primaria e secondaria costituiscono il gruppo clinicamente più rappresentato, mentre le forme congenite sono osservate raramente (Plummer *et al.*, 2013).

La classificazione del glaucoma canino in base alla persistenza nel tempo — acuto, subacuto, cronico— è puramente clinica. Edema corneale, congiuntivite e midriasi ambientale sono i segni clinici più precoci, che possono essere rilevati dal proprietario stesso. Un aumento moderato della IOP, in assenza di altri segni clinici, solitamente non viene rilevato e molti pazienti vengono condotti alla visita oculistica solo in presenza di alterazioni gravi e con perdita già avvenuta della funzione visiva (Gelatt & Brooks, 1999).

Indipendentemente dalle classificazioni, il glaucoma è una patologia in progressivo e costante sviluppo. Un evento è responsabile delle alterazioni al normale deflusso dell'umor acqueo ed esso si accumula, essendone impedito il drenaggio; la IOP aumenta fino a diventare troppo elevata per il normale flusso assonale e per il circolo ematico, con conseguente sviluppo di alterazioni a carico delle cellule multipolari, che portano ad apoptosi cellulare e necrosi, riduzione del flusso assonale con degenerazione e atrofia del nervo ottico, perdita progressiva del campo visivo e cecità (Williams *et al.*, 1983; Shields *et al.*, 1996; Fechtner & Weinreb, 1994; Quigley *et al.*, 1995). Col progredire della patologia, la flogosi coinvolge sia il segmento anteriore sia il segmento posteriore. L'infiammazione del segmento anteriore aggrava le alterazioni di flusso dell'umor acqueo, a causa del richiamo di

cellule infiammatorie (neutrofili negli stadi iniziali, linfociti successivamente) e del deposito di fibrina con formazione di sinechie. Le alterazioni a carico della retina determinano una rottura della barriera emato-retinica e una dispersione di pigmento dall'epitelio retinico pigmentato (Mangan *et al.*, 2007), con diffusione di macrofagi per tutta la neuroretina e il corpo vitreo (Reilly *et al.*, 2005). Queste alterazioni del segmento posteriore portano all'esposizione di auto-antigeni retinici, il che determina un aggravamento ulteriore dell'intensità e della durata dello stato infiammatorio (Plummer *et al.*, 2013).

Le procedure cliniche basilari per la diagnosi di glaucoma sono tre: tonometria, oftalmoscopia e gonioscopia. La tonometria è essenziale sia per la diagnosi sia per seguire un corretto management del paziente. Nel cane il normale range di pressione intraoculare va da 10 a 25 mm Hg, con variazioni pressorie fisiologiche, documentate nel cane, nel corso della giornata, caratterizzate da valori più alti la mattina e più bassi la sera (Gelatt *et al.*, 1981a). Sono considerate moderatamente elevate pressioni tra 25 e 30 mm Hg, elevate oltre i 30 mm Hg e, dopo le 24 ore, una pressione di 40 mm Hg causa delle alterazioni irreversibili. Il valore tonometrico rappresenta la situazione pressoria dell'occhio in un preciso istante, pertanto una sola misurazione può essere non sufficiente per una corretta valutazione.

misurazioni ripetute della IOP ogni 10-12 ore possono invece fornire informazioni utili riguardo l'evoluzione della patologia, tenendo anche conto del fatto che picchi di innalzamento pressorio rappresentano il rischio principale di alterazioni irreversibili (Ducker, 1996; Andrade *et al.*, 2012).

L'esame oftalmoscopico permette la valutazione del fondo oculare del paziente; a seconda dello stadio evolutivo della patologia, la papilla ottica appare aumentata di diametro (mentre al centro compare un infossamento: *cupping*), il margine tra questa e la neuroretina si assottiglia e compaiono i segni di degenerazione retinica con aree di iper riflettività (Gelatt & Brooks, 1999).

La gonioscopia consente di osservare direttamente l'angolo irido-corneale, permettendo una diagnosi accurata del tipo di glaucoma, classificato in base al grado di apertura della fessura di filtrazione (Bedford, 1985). Trattandosi di una patologia in continua evoluzione, tramite rilevamenti gonioscopici ripetuti, è possibile avere informazioni sulla progressiva chiusura dell'angolo irido-corneale. La gonioscopia può essere utilizzata anche per la diagnosi di displasia del legamento pettinato o la fusione dei suoi elementi (Ekesten & Narfstrom, 1991).

I segni clinici osservabili in corso di glaucoma sono dipendenti dalla forma e dallo stadio di progressione, in relazione al grado di innalzamento della IOP

e della durata di questo nel tempo. Lo stadio evolutivo può non essere lo stesso in entrambi gli occhi; spesso, al contrario, si osserva un occhio in fase già piuttosto avanzata mentre il controlaterale appare sano o vi si rilevano solo alterazioni molto precoci. Nelle primissime fasi, nonostante l'innalzamento della IOP, il glaucoma si presenta asintomatico e per questo può essere molto insidioso. Compaiono poi midriasi ambientale, edema corneale lieve e transitorio, congestione episclerale di intensità variabile; la papilla ottica appare fisiologica e la pressione intraoculare si presenta lievemente aumentata, dai 25 ai 30 mm Hg. Nel glaucoma moderato la midriasi si fa più evidente, soprattutto in ambiente scarsamente illuminato, così come la congestione episclerale e l'edema corneale; possono comparire una leggera buftalmia, sublussazione del cristallino e alterazioni variabili della retina e del nervo ottico all'esame fundoscopico. La IOP, in questo stadio, oscilla tra i 30 e i 40 mm Hg. In uno stadio avanzato della patologia il paziente mostra periodi intermittenti di perdita del *visus* fino alla cecità, midriasi persistente, edema e strie corneali, sinechie della camera anteriore, lussazione del cristallino, buftalmia, sviluppo di cataratta corticale, degenerazione vitreale, degenerazione estesa della retina e della papilla ottica; la pressione intraoculare è maggiore di 40-50 mm Hg. L'aumento di dimensioni e lo stiramento del globo oculare causano dolore intenso. In corso di picchi di pressione molto elevata, all'esame del fondo si osservano

papilledema con perdita di mielina e aree cuneiformi di degenerazione corioretinica, dovute a un'ischemia secondaria all'infarcimento delle arterie ciliari brevi (Bedford, 1980c; Plummer *et al*, 2013).

La reazione di minaccia in questi pazienti è normalmente assente, può essere presente una risposta, seppur molto diminuita, negli stadi di glaucoma molto precoci; lo stesso discorso può essere fatto per il *dazzle reflex*. Con la valutazione colorimetrica, il PLR risulta assente o gravemente ridotto sia alla stimolazione con luce rossa sia alla stimolazione con luce blu (Grozdanic *et al.*, 2007). In un paziente di razza predisposta, che all'esame gonioscopico presenti un angolo irido-corneale ristretto senza però altri segni clinici, è possibile utilizzare la valutazione colorimetrica come esame predittivo di glaucoma acuto. In particolare, la stimolazione con la luce rossa rappresenta un test sensibile per il riscontro di alterazioni retiniche precoci, in quanto la prima componente a essere colpita è l'albero dendritico delle cellule multipolari, con conseguente deficit del PLR fotorecettore-mediato. Una diminuita o mancata risposta del riflesso alla luce rossa, dunque, è predittiva di un aumento della IOP entro 60 giorni, mentre continua a essere presente il riflesso fotomotore dopo stimolazione con luce blu (Hernandez-Merino *et al.*, 2007). All'esame elettroretinografico, risulta un tracciato piatto o fortemente diminuito in ampiezza (Grozdanic *et al.*, 2007).

Cataratta

Nonostante non sia causa di alterazione del riflesso fotomotore, la cataratta è una patologia oculare piuttosto frequente nel cane che, per le sue caratteristiche, può impedire la valutazione fundoscopica del settore posteriore dell'occhio. Ciò la rende una patologia di interesse per l'utilizzo della valutazione colorimetrica del PLR, come esame diagnostico per le alterazioni del fondo oculare.

La cataratta è un processo di progressiva perdita di trasparenza del cristallino, si può presentare con una varietà di caratteristiche e ha diverse eziologie. Esistono numerosi parametri di classificazione per la cataratta canina, in base all'eziologia, l'età di insorgenza (congenita, giovanile, senile), l'origine dell'opacizzazione all'interno della lente (capsulare, subcapsulare, corticale, nucleare, delle linee di sutura) (Chylack & Khu, 2000), l'aspetto della lesione (puntiforme, pulverulenta, cuneiforme, stellata etc.) e il grado di sviluppo (incipiente, immatura, matura e ipermatura). Per un'identificazione più corretta è opportuno integrare tra loro tutti gli schemi di classificazione (Gelatt, 1991).

È importante distinguere la cataratta da una forma parafisiologica di invecchiamento del cristallino: la nucleosclerosi. La nucleosclerosi è una

condizione molto comune nel cane che abbia superato i 7 anni di età ed è dovuta alla formazione continua di fibre lenticolari, che determina, in età senile, una compressione interna delle fibre più vecchie, soprattutto a livello del nucleo. Ciò comporta un cambiamento delle proprietà ottiche del cristallino con una dispersione della luce, clinicamente osservabile con un aspetto bianco-bluastro in presenza di luce diffusa. Attraverso la retroilluminazione è ancora visibile osservare il fondo oculare e ciò rappresenta un parametro importante nella diagnosi differenziale con la cataratta. Negli stadi di sclerosi più avanzata, però, alcuni dettagli fundoscopici possono non essere più osservabili, rendendo impossibile la differenziazione tra una nucleosclerosi avanzata e una cataratta incipiente (Kuszak *et al.*, 1994).

La presenza di cataratta causa riflessione, rifrazione o dispersione della luce, in base alla sua particolare conformazione e, a seguito di illuminazione focale, la maggior parte delle alterazioni catarattose impediscono il passaggio della luce e si mostrano di un color bianco madreperla (Gelatt, 1991). La classificazione più rilevante, per quanto riguarda l'impossibilità di valutare il fondo oculare a causa dell'ostacolo al passaggio di luce, è il grado di maturità della cataratta. Per cataratta incipiente si intende uno stadio molto precoce dello sviluppo, in cui le alterazioni hanno coinvolto circa il

10-15% del volume della lente; più comunemente sono colpite le regioni corticale, subcapsulare e delle linee di sutura, a seconda dell'eziologia. La cataratta immatura rappresenta lo stadio successivo, in cui la riflessione tappetale è ancora parzialmente visibile. Una cataratta matura si definisce quando l'alterazione ha coinvolto l'intera struttura, oscurando e impedendo completamente l'osservazione del fondo oculare e determinando un aumento dello spessore della lente stessa (Williams, 2004). Nelle forme più progressive e negli stadi molto avanzati di cataratta, si parla di forma ipermatura, in cui avviene un rilascio da parte delle fibre lenticolare degenerate di enzimi di degradazione, i quali causano una proteolisi della lente, soprattutto a livello delle aree corticali. Proteine lisate e acqua possono fuoriuscire attraversando la capsula del cristallino, determinando una riduzione delle dimensioni della lente e l'aspetto rugoso e irregolare caratteristico della superficie capsulare (Gelatt, 1991). Una complicazione comune, in queste forme, è l'uveite lente-indotta (Van Der Woerdt, 2000).

Per quanto riguarda l'eziologia, la cataratta che insorge nel soggetto giovane o adulto, di razza pura, in assenza di patologie sistemiche primarie responsabili (vedi oltre), si definisce cataratta su base ereditaria, primaria e rappresenta la forma più comune in medicina veterinaria. In realtà, solo in un gruppo ridotto di razze è stata effettivamente dimostrata una base

ereditaria e sono state definite le modalità di trasmissione; ciononostante, la caratteristica e frequente localizzazione anatomica negli stadi iniziali, l'età di insorgenza, la modalità di progressione, la natura bilaterale e l'assenza di altre patologie oculari e sistemiche come possibili cause, suggeriscono la presenza di un fattore genetico trasmissibile anche in molte altre razze (Gelatt & Mackay, 2005; Rubin, 1989). Nel 2010 il *Genetics Committee of the American College of Veterinary Ophthalmologists* ha stilato un elenco di 160 razze canine in cui è sospettata o è stata confermata una base genetica per cataratta (ACVO Genetics Committee, 2010).

Negli stadi avanzati di degenerazione retinica è comune lo sviluppo di cataratta secondaria. Le prime alterazioni generalmente si osservano a livello della corticale posteriore, con aree di opacità e vacuolizzazione, per poi coinvolgere anche la corticale equatoriale e, spesso, l'intera lente (Charles, 2010).

Patologie o alterazioni sistemiche causa di cataratta come complicazione secondaria sono diabete mellito, ipergalattosemia, ipocalcemia, ipercupremia, alterazioni metaboliche congenite e alcune intossicazioni (Wiebers *et al.*, 1977; Bundza *et al.*, 1979; Kunkle *et al.*, 1984; Barnett & Cottrell, 1987; Bruyette & Feldman, 1988; Sato *et al.*, 1991; Sato *et al.*, 1998).

Capitolo V

Le principali patologie extra oculari responsabili di alterazione del PLR

Le patologie che colpiscono il nervo ottico, le strutture cerebrali coinvolte nell'acquisizione ed elaborazione dell'immagine e le fibre nervose parasimpatiche del nervo oculomotore, essendo queste tutte strutture coinvolte nel riflesso fotomotore, sono cause extra oculari di alterazione del PLR. Nel dettaglio si tratta di:

- Neuropatie del nervo ottico e meningiti
- Neoplasie comprimenti il nervo ottico o il chiasma ottico
- Alterazioni delle vie ottiche
- Oftalmoplegia

Neuropatie del nervo ottico, meningiti e neoplasie

comprimenti il nervo ottico

Nel cane le patologie più comuni del nervo ottico sono quelle su base infiammatoria. È più opportuno parlare di “neuriti ottiche” in quanto non si tratta di una singola patologia, ma piuttosto di una sindrome clinica (Glaser, 2005). Le possibili eziologie delle **neuriti ottiche** sono: idiopatica, neoplastica, immunomediata e infettiva (Palmer *et al.*, 1974; Nafe & Carter, 1981; Cuddon & Smith-Maxie, 1984; Paulsen *et al.*, 1989; Ryan *et al.*, 2001; Stadtbäumer *et al.*, 2004; Glaser, 2005). Le neuriti ottiche devono essere distinte clinicamente dal papilledema e dallo pseudopapilledema: il primo è un edema della papilla ottica secondario a un aumento della pressione endocranica, mentre il secondo è un apparente rigonfiamento papillare, non patologico, dovuto a una abbondante presenza di mielina papillare, tipica di alcune razze. Le neuriti ottiche del cane sono spesso classificate come idiopatiche (Nafe & Carter, 1981; Stadtbäumer *et al.*, 2004). L'infiammazione del nervo ottico può essere monolaterale o bilaterale e possono essere colpiti sia la papilla ottica sia la componente retrobulbare (Nafe & Carter, 1981; Curtis *et al.*, 1991; Nell, 2008). I segni clinici di cecità compaiono con insorgenza improvvisa, le pupille appaiono fisse e midriatiche, la papilla ottica edematosa e gonfia, i vasi sanguigni su di essa

prominenti e possono essere presenti aree emorragiche. Edema retinico peripapillare e retinite sono segni frequentemente osservati nel cane in associazione a neurite ottica (Nafe & Carter, 1981; Nell, 2008); è anche possibile non osservare alcun coinvolgimento della papilla nelle forme squisitamente retrobulbari (Nafe & Carter, 1981). Tra le cause infettive più comuni di neurite ottica si annoverano cimurro (Richards *et al.*, 2011), meningoencefalite da zecca (Tick-Borne Encephalitis, TBE), blastomicosi, criptococchi, istoplasmosi, erlichiosi e toxoplasmosi (Nell, 2008; Stadtbäumer *et al.*, 2004). Oltre alle forme idiopatiche, altre cause possibili nel cane sono: esposizione a tossine, deficienza di vitamina A, ascessi o cellulite orbitale, neoplasie a carico del nervo ottico o dell'orbita. La prognosi per il recupero del *visus*, a seguito di neurite ottica, è spesso infausta (Nafe & Carter, 1981; Curtis *et al.*, 1991; Stadtbäumer *et al.*, 2004; Nell, 2008).

Con il termine **reticolosi** viene indicato un gruppo di patologie neoplastiche e infiammatorie, a eziologia idiopatica, del sistema nervoso centrale, comprendente la **meningoencefalite granulomatosa** (GME). Nel dettaglio, si tratta di patologie neoplastiche con una spiccata componente infiammatoria, le quali spesso mal si distinguono da forme primariamente infiammatorie gravi e croniche, che possono, a loro volta, evolvere con caratteristiche istologiche di tipo neoplastico. La causa scatenante di queste patologie non

sempre è conosciuta, ma può trattarsi di una forma primaria di linfoma cerebrale (Cuddon & Smith-Maxie, 1984; Curtis *et al.*, 1991; Ryan *et al.*, 2001; Nuhsebaum *et al.*, 2002). La proliferazione degli elementi reticolo-istiocitari del sistema nervoso centrale determina lo sviluppo di papilliti, neuriti ottiche, corioretiniti, coroiditi e distacchi retinici. La presentazione tipica del paziente è di cecità ad insorgenza improvvisa, pupille fisse e dilatate; la papilla ottica può apparire iperemica e rigonfia, nelle forme in cui a essere colpita non risulta solamente la porzione retrobulbare (Cuddon & Smith-Maxie, 1984; Nell, 2008).

Il nervo ottico può essere secondariamente affetto da una varietà di patologie flogistiche o neoplastiche riguardanti i tessuti adiacenti e contigui, come uvea, retina, sclera, orbita, seni paranasali e meningi. Il deficit visivo può derivare, in questi casi, da un reale coinvolgimento infiammatorio del nervo ottico oppure dalla pressione esercitata sul nervo dall'infiltrazione cellulare o dalla formazione di una massa (Glaser, 2005).

Il nervo ottico, in ogni punto del suo percorso, può essere soggetto a **traumi**, in particolare, nel cane, derivanti dalla frattura orbitale o dalla proptosi del globo oculare; nelle lesioni da avulsione la funzione visiva viene persa immediatamente e si tratta di un danno irreversibile (Gilger *et al.*, 1995; Fritsche *et al.*, 1996; Glaser, 2005).

I **tumori del nervo ottico** nel cane si manifestano con esoftalmo associato o meno a papilledema monolaterale o bilaterale —per ostruzione del flusso assonale— e neurite ottica secondaria (Nafe & Carter, 1981; Mauldin *et al.*, 2000). I tumori primari nel cane sono principalmente il meningioma, il ganglioglioma e il medulloepitelioma teratoide; neoplasie dei tessuti adiacenti il nervo ottico, causa di sintomatologia compressiva e infiltrativa, sono più comunemente il carcinoma squamocellulare, tumori nasali e orbitali (Nafe & Carter, 1981; Paulsen *et al.*, 1989; Curtis *et al.*, 1991; Mauldin *et al.*, 2000). La localizzazione metastatica è possibile, soprattutto a partire da neoplasie cerebrali e spesso sono presenti altri segni oculari associati, quali glaucoma, formazione di membrane fibrovascolari iridee e ifema (Naranjo *et al.*, 2008). Lo sviluppo di una massa unica coinvolgente il chiasma ottico (più comunemente si tratta di carcinomi pituitari non-ormonosecernenti, gliomi del nervo ottico e meningiomi) può portare a cecità acuta senza comparsa di segni neurologici associati (Safaty *et al.*, 1988; Davidson *et al.*, 1991).

Neuropatie di diversa eziologia, meningiti e neoplasie primarie o compressive del nervo o del chiasma ottico possono presentarsi, per quanto riguarda una valutazione neuroftalmologica, con caratteristiche assimilabili. La perdita della funzione visiva ha un'insorgenza improvvisa, soprattutto

quando il danno è bilaterale o è coinvolto il chiasma; la reazione di minaccia risulta essere, di conseguenza, assente, così come il *dazzle reflex*. La valutazione colorimetrica del PLR si presenta del tutto negativa, con assenza di risposta alla stimolazione sia con la luce rossa sia con la luce blu, mentre il tracciato elettroretinografico, a meno che la retina non sia coinvolta nella patologia, appare normale (Grozdanic *et al.*, 2007).

Alterazioni delle vie ottiche

Le vie ottiche, che originano a partire dal chiasma ottico, decorrono caudodorsalmente al lato corrispondente del diencefalo, progredendo poi in senso ventrolaterocaudale, per raggiungere il nucleo genicolato laterale (Bishop & Clare, 1955). Dal nucleo genicolato laterale, il tratto ottico continua in due diverse strade: la via della percezione cosciente e la via riflessa. Nel primo caso, gli assoni dei neuroni del corpo genicolato laterale si proiettano nella capsula interna e decorrono caudalmente terminando nella *cortex visiva*, nelle porzioni laterali, caudali e mediali del lobo occipitale (Glickenstein *et al.*, 1967; Niimi & Sprague, 1970). Per quanto riguarda le vie riflesse, una è responsabile dei riflessi legati alla risposta somatica motoria all'attività della retina, mentre per il controllo del riflesso fotomotore alcuni assoni delle vie ottiche raggiungono il nucleo pretettale. La maggior parte degli assoni dei neuroni presenti nel nucleo pretettale

decussa, contraendo sinapsi nei nuclei efferenti generali parasimpatici del nervo oculomotore (De Lahunta & Glass, 2009h).

Le alterazioni delle aree coinvolte nel decorso delle vie ottiche sono causa di deficit visivi, ma non interferiscono con il riflesso fotomotore, a meno che non riguardino la via riflessa del PLR. Il quadro clinico si presenta molto variabile in base all'area interessata dalla patologia, in molti casi è concomitante una sintomatologia di tipo neurologico e il riflesso fotomotore può presentarsi normale o lievemente alterato.

Infezioni batteriche e virali del sistema nervoso centrale sono causa di **meningiti o meningoencefaliti**, le quali possono esitare in una sintomatologia anche oculare, in correlazione alla regione del cervello coinvolta. Per quanto riguarda le forme batteriche, nel cane e nel gatto l'ingresso dei patogeni avviene quasi sempre per disseminazione da aree contigue o per penetrazione diretta nel Sistema Nervoso Centrale, mentre è molto rara la via ematogena (Meric, 1988; Fecteau & George, 2004).

Lo sviluppo di **neoplasie intracraniche**, siano essere primarie o metastatiche, spesso è causa, in concomitanza, di segni oculari; è importante effettuare un esame oftalmoscopico in tutti i pazienti con sospetta lesione del SNC occupante spazio, per determinare la presenza di papilledema, neurite ottica o atrofia del nervo ottico. I segni neuroftalmici associati a neoplasia

intracranica sono molto variabili: si può osservare solo una lieve oftalmoplegia interna oppure segni oculari associati ad alterazioni dei nervi cranici, disturbi dell'andatura e dell'attività mentale (Larocca, 2000; Cullen *et al.*, 2002; Rossmeis *et al.*, 2005; Webb *et al.*, 2009a). Nel cane la presentazione più frequente, in corso di neoplasia intracranica, consiste in deficit visivo e papilledema, associati ad altri segni neurologici (Palmer *et al.*, 1974). A causa del grado variabile di mielinizzazione della papilla ottica nel cane, i primi segni di papilledema sono difficili da identificare, a meno che non si osservi una marcata asimmetria tra un occhio e il controlaterale. Le neoplasie intracraniche sono frequentemente causa di cecità a insorgenza più o meno acuta; nella maggior parte dei casi, in realtà, il deficit visivo si sviluppa gradualmente, ma le alterazioni parziali del *visus* non vengono notate dal proprietario.

Oltre alla possibile osservazione di papilledema e alla presenza di sintomatologia neurologica, in corso di tumori o infiammazioni cerebrali all'esame fundoscopico non sono presenti altri segni oculari. La perdita della funzione visiva, monolaterale o bilaterale, a insorgenza acuta o progressiva, determina assenza di risposta alla reazione di minaccia, mentre il *dazzle reflex* può essere positivo o negativo, a seconda delle aree colpite dalle lesioni. Le pupille possono presentarsi miotiche, anche dopo un adeguato

periodo di adattamento al buio. Alla valutazione colorimetrica del PLR non si ottengono risposte univoche: il riflesso può essere presente, sia con luce rossa sia con luce blu, oppure può essere rallentato e incompleto con entrambe, ma, solitamente, in modo più marcato con la luce blu. Non essendo coinvolta la retina nel processo patologico, l'esame elettroretinografico risulta perfettamente nella norma (Grozdanic *et al.*, 2007).

Oftalmoplegia

I neuroni della regione pretettale contraggono sinapsi con i motoneuroni inferiori del sistema parasimpatico, nella porzione più rostrale del nucleo oculomotore controlaterale del mesencefalo. Un ristretto numero di neuroni pretettali forma sinapsi direttamente sulla parte rostrale del nucleo oculomotore ipsilaterale. Gli assoni viscerali efferenti del nervo oculomotore del cane decorrono superficialmente sul lato mediale del nervo cranico e, pertanto, sono a rischio di compressione da parte di neoplasie extraparenchimali o a causa di dilatazione o dislocazione del mesencefalo. All'interno dell'orbita, il nervo oculomotore si dirama in corrispondenza di un piccolo ganglio, il *ganglio ciliare*. Il nervo oculomotore provvede all'innervazione motoria dei muscoli retti dorsale, mediale e ventrale, dei muscoli obliqui ventrali, del muscolo elevatore della palpebra superiore,

inoltre è responsabile, tramite le fibre parasimpatiche del ganglio ciliare, della contrazione pupillare, innervando il muscolo ciliare e il muscolo sfintere della pupilla (Theisen *et al.*, 1996; De Lahunta & Glass, 2009h).

L'oftalmoplegia è la paralisi, completa o parziale, mono o bilaterale, dei muscoli oculomotori, a causa di lesioni delle fibre nervose del nervo oculomotore (III N.C.) o delle strutture cerebrali a monte. Una lesione riguardante il nervo oculomotore si manifesta con ptosi, midriasi non responsiva al riflesso fotomotore diretto e consensuale (spesso unico segno clinico presente), strabismo ventrolaterale e possibilità di effettuare solo movimenti laterali del globo oculare (Theisen *et al.*, 1996). Nel dettaglio, si distinguono un'**oftalmoplegia interna**, quando sono coinvolti i muscoli intrinseci del globo oculare e un'**oftalmoplegia esterna** quando sono colpiti i muscoli estrinseci. L'alterazione del riflesso fotomotore è evidente nelle forme complete —in cui è compromessa l'innervazione sia della muscolatura intrinseca sia della muscolatura estrinseca— e nelle forme caratterizzate dalla sola oftalmoplegia interna.

Le oftalmoplegie di origine periferica, ovvero causate da lesione dei nervi lungo il loro decorso, sono solitamente accompagnate da una sintomatologia più estesa, per il coinvolgimento di altri nervi cranici; le oftalmoplegie di

origine centrale sono, invece, provocate da alterazioni dei nuclei di origine delle fibre nervose.

L'oftalmoplegia interna può far parte dei segni clinici osservati in corso di lesioni coinvolgenti il mesencefalo, riuniti sotto la denominazione di **sindrome mesencefalica**. I nervi oculomotori, i nuclei parasimpatici del nervo oculomotore e i nuclei genicolati laterali fanno parte del mesencefalo, pertanto in corso di sindrome mesencefalica si riscontrano spesso alterazioni oculari, quali: strabismo ventrolaterale mono o bilaterale; oftalmoplegia interna (per coinvolgimento dei nuclei parasimpatici del III N.C.) con midriasi e ptosi della palpebra superiore; deficit di reazione alla minaccia controlaterale alla lesione (in caso di coinvolgimento del nucleo genicolato laterale diencefalico). Altri possibili segni clinici riguardano i sistemi motorio e respiratorio (Braund, 2003).

Il seno cavernoso è una struttura venosa pari, situata sul pavimento della volta cranica, che si trova in rapporto, lungo il loro decorso, con i nervi cranici oculomotore (III N.C.), trocleare (IV N.C.), abducente (VI N.C.) e con le branche oftalmica e mascellare del nervo trigemino (V N.C.). Ogni patologia riguardante la regione del seno cavernoso è causa, conseguentemente, anche di un deficit dei nervi cranici sopra citati e ciò prende il nome di **sindrome del seno cavernoso**, la quale, nel cane, si

presenta con il sintomo clinico più comune di oftalmoplegia interna. Le manifestazioni cliniche possono essere mono o bilaterali e sono rappresentate da: pupilla fissa e dilatata, non responsiva all'esame del PLR diretto e consensuale (oftalmoplegia interna); alterazione della sensibilità corneale; alterazione della retrazione del globo oculare; ptosi; oftalmoplegia esterna (Theisen *et al.*, 1996; Rossmeisl *et al.*, 2005). La causa più comune di patologia del seno cavernoso, nel cane e nel gatto, è la forma neoplastica; nel dettaglio, in letteratura sono stati riportati casi di adenocarcinoma tiroideo metastatico, adenocarcinoma di origine ignota, adenocarcinoma ipofisario a cellule cromofobe, oligodendroglioma e tumori delle cellule germinali, con una prognosi, pertanto, considerata infausta (Lee & Griffiths, 1972; Griffiths & Lee, 1979; Berryman *et al.*, 1981; Lewis *et al.*, 1984). Nel cane è stata riportata anche una forma di meningoencefalite granulomatosa come causa di sindrome del seno cavernoso in un caso (Lee & Griffiths, 1972).

La forma monolaterale di oftalmoplegia interna si manifesta con anisocoria ed è importante escluderne le altre possibili cause, più comuni nel cane, ovvero: atrofia iridea ipsilaterale; applicazione di farmaci a uso topico contenenti atropina o molecole atropina-*like*, glaucoma; alterazioni monolaterali di retina e nervo ottico (Grahm *et al.*, 2007).

In presenza di oftalmoplegia, la reazione alla minaccia appare normale e, se non per altre alterazioni concomitanti, non è rilevato alcun deficit visivo. La risposta al *dazzle reflex* è positiva e all'esame del fondo oculare non si osservano alterazioni. In corso di sindrome mesencefalica o di sindrome del seno cavernoso, sono generalmente presenti altri segni neurologici associati (Grozdanic *et al.*, 2007).

Per la diagnosi differenziale nei casi di anisocoria, si effettua una stimolazione parasimpatica topica dell'occhio affetto con un collirio a base di pilocarpina; in letteratura sono riportate due diverse diluzioni della soluzione, una più concentrata all'1% (Grahn *et al.*, 2007) e una allo 0,1% (Theisen *et al.*, 1996). Una goccia della soluzione viene instillata in entrambi gli occhi e si misura il tempo di costrizione pupillare: entrambe le pupille si contraggono entro 1 ora, ma la pupilla patologica risponde tra i 10 e i 20 minuti. La reazione più marcata dell'occhio affetto è suggestiva di una lesione parasimpatica efferente ed esclude, allo stesso tempo, un'atrofia dell'iride. Questo esame non permette, però, di differenziare una localizzazione pre-gangliare o post-gangliare della lesione. Trattandosi di una risposta iper reattiva da parte dell'occhio patologico, sarebbe più corretto utilizzare la soluzione a base di pilocarpina meno concentrata (Theisen *et al.*, 1996; Grahn *et al.*, 2007).

La valutazione colorimetrica del PLR riporta una completa assenza di risposta, a seguito di stimolazione sia con luce rossa sia con luce blu; in corso di oftalmoplegia monolaterale, si osserva un riflesso fotomotore consensuale con entrambe le fonti di luce, ovvero l'illuminazione dell'occhio affetto risulta in una costrizione della pupilla controlaterale. Il tracciato elettroretinografico appare normale, non essendo coinvolta la componente retinica (Grozdanic *et al.*, 2007).

**APPLICAZIONE CLINICA DELLA
VALUTAZIONE COLORIMETRICA
DEL PLR NELL'OFTALMOLOGIA DEL
CANE**

Introduzione

Lo scopo di questa indagine retrospettiva è stato quello di analizzare l'utilità e l'efficacia diagnostica della valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore nella visita oculistica del cane con deficit visivo.

La valutazione colorimetrica del PLR presenta numerosi vantaggi: è un esame ambulatoriale, rapido, indolore, non necessita di sedazione o anestesia generale del paziente, possiede ottimi parametri di sensibilità e specificità diagnostiche (Grozdanic *et al.*, 2007) e l'unico costo è rappresentato dall'acquisto iniziale dello strumento. Tali caratteristiche lo rendono un esame adatto all'introduzione nella visita oculistica, come test di *screening* per la diagnosi differenziale delle possibili cause di alterazione del *visus*.

La seconda applicazione del test è la valutazione pre-chirurgica della funzionalità retinica nei pazienti affetti da cataratta: una funzionalità retinica normale rappresenta un criterio di inclusione fondamentale per questo tipo di intervento.

In comparazione alle risposte ottenute da altri esami di comune utilizzo nella pratica oculistica, come la valutazione dei riflessi fotomotore e all'abbagliamento, la valutazione colorimetrica può fornire ulteriori

informazioni relativamente alla diagnosi differenziale tra la patologie oculari e neurologiche causa di deficit visivo.

In entrambi gli utilizzi, la valutazione colorimetrica rappresenta il primo *step* diagnostico di eventuali alterazioni della funzione visiva del paziente, permettendo di affrontare, con maggiore consapevolezza, ulteriori approfondimenti diagnostici, come l'elettroretinografia e la risonanza magnetica, più invasivi per il paziente e più costosi per il proprietario.

Capitolo VI

Materiali e metodi

Lo studio è stato effettuato su 94 animali afferiti presso l'ambulatorio di oculistica dell'Ospedale Didattico Veterinario "Mario Modenato", del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Pisa, nell'arco temporale compreso tra gennaio 2014 e luglio 2016. Di tali soggetti sono stati valutate in modo retrospettivo le cartelle cliniche e i criteri di inclusione sono stati la specie animale, ovvero il cane, e il dato anamnestico di alterazione della funzione visiva, parziale o completa. I casi clinici sono rappresentati da soggetti di entrambi i sessi, appartenenti a diverse fasce di età e a numerose razze.

Lo studio si basa su un iter procedurale che viene applicato nei casi di deficit visivo di qualsiasi eziologia, ovvero:

- raccolta dei dati anamnestici;
- valutazione neuroftalmologica;
- valutazione colorimetrica del PLR;

- esame oftalmoscopico;
- ulteriori procedure diagnostiche di approfondimento (valutazioni di ordine neurologico, elettroretinografia, risonanza magnetica).

Il dato anamnestico comune a tutti i pazienti —nonché criterio di inclusione nell'indagine— è un deficit, più o meno marcato, della funzione visiva. Nella **raccolta dei dati** sono state poste domande specifiche atte a caratterizzare l'entità dell'alterazione: la rapidità con cui si è manifestata, l'età del soggetto al momento dell'insorgenza, il tempo trascorso da essa e le eventuali evoluzioni, le variazioni del *visus* nell'arco della giornata (cecità fotopica e cecità scotopica). Particolare attenzione è stata posta all'appartenenza dei soggetti a determinate razze, per le quali è stata confermata una trasmissione di tipo ereditario di patologie oculari causa di alterazioni della funzione visiva. Altre informazioni di utilità diagnostica possono essere fornite anche dall'eventuale concomitanza di altri segni clinici sistemici e/o di alterazioni dei parametri emato-biochimici.

La **visita neuroftalmologica** consiste nell'evocazione della reazione di minaccia e nella valutazione dei riflessi palpebrale, fotomotore e all'abbagliamento.

Il riflesso palpebrale è il primo ad essere verificato, in quanto un disturbo dell'innervazione cutanea (nervo trigemino e nervo facciale) può essere

causa di risultati falsi negativi nella valutazione della reazione di minaccia e del *dazzle reflex*. Il riflesso è stato elicitato toccando delicatamente la cute del canto laterale e mediale e si manifesta con la chiusura delle palpebre a ogni singolo contatto.

La reazione di minaccia è stata evocata, mantenendo coperta la visuale dell'occhio controlaterale, avvicinando repentinamente due dita all'occhio in esame (prestando attenzione a non toccare con il dito o la mano peli tattili e vibrisse né a generare un eccessivo spostamento d'aria) e facendo provenire lo stimolo dalle diverse aree del campo visivo. È stata considerata positiva la risposta caratterizzata dalla chiusura dell'occhio ipsilaterale allo stimolo, associata o meno a una retrazione del globo oculare e a movimenti di allontanamento della testa. È stata giudicata come una reazione "parziale" la risposta evocata solo dopo ripetuti tentativi o solo a seguito di stimoli provenienti da determinati campi visivi. Nei casi di risposta dubbia, sono stati effettuati anche il test del labirinto (a luce diurna e in penombra) e il *cotton ball* test.

La valutazione del riflesso fotomotore è stata effettuata esponendo l'occhio in esame, per alcuni secondi, a una luce bianca, brillante e focale. La risposta è positiva quando si osserva una immediata miosi pupillare dell'occhio illuminato (PLR diretto) e contemporaneamente del controlaterale (PLR

consensuale). Sono state valutate come “incomplete” le risposte di miosi parziale o di miosi completa ma solo dopo esposizione prolungata alla fonte luminosa. I casi di contrazione pupillare iniziale seguita da una nuova dilatazione sono stati classificati come “PLR con *pupillary escape*”.

Contestualmente al riflesso fotomotore, è stato valutato anche il *dazzle reflex*, caratterizzato dalla chiusura parziale del margine palpebrale in risposta all’esposizione a una fonte luminosa intensa, presentata in entrambi gli occhi separatamente. È stata posta attenzione a non avvicinare eccessivamente la fonte luminosa alla cornea, per evitare risposte false positive dovute al calore generato dalla luce stessa. Sono state valutate come “parziali” le risposte evocate solo dopo una prolungata esposizione allo stimolo luminoso.

La visita oftalmoscopica è stata preceduta dalla valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore, anche nei soggetti in cui è stato possibile esaminare il fondo oculare, al fine di evitare che le risposte ottenute fossero influenzate dall’osservazione di segni clinici oculari suggestivi di particolari alterazioni.

Lo strumento utilizzato nell’indagine per la valutazione colorimetrica del PLR è stato il *Melan-100 (Iris-Vet Series) Pupil Light Reflex Stimulator*. Dopo un periodo di adattamento al buio di 1 minuto, è stato testato il riflesso fotomotore a seguito di stimolazione con luce rossa, emessa all’intensità di

200 Kcd/m². La fonte luminosa è stata posta a circa 2,5 cm dall'occhio in esame per un massimo di 10 secondi, osservando le variazioni del diametro pupillare. La fonte luminosa è stata allontanata non appena fosse stata osservata una miosi completa, definita come un diametro pupillare inferiore ai 4 mm. La stimolazione con la luce rossa è stata effettuata, dopo pochi secondi, anche sull'occhio controlaterale. Dopo un nuovo periodo di adattamento al buio, sempre della durata di 1 minuto, la stessa procedura è stata seguita per la valutazione con la luce blu, anch'essa con intensità ottimale di 200 Kcd/m² (Melan-100®, BioMed Vision Technologies, Instruction Manual). Sono state valutate come "incomplete" le risposte di miosi parziale o di miosi completa ma solo dopo esposizione prolungata alla fonte luminosa. I casi di contrazione pupillare iniziale seguita da una nuova dilatazione sono stati classificati come "PLR con *pupillary escape*" (Duke-Elder, 1938).

Oltre che sui 94 pazienti con anamnesi di deficit visivo, dati sulla valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore sono stati repertati anche nelle cartelle cliniche di 4 cani con funzione visiva normale e che non hanno manifestato alcuna alterazione oftalmica alla visita oculistica completa. I risultati della procedura su questi soggetti sono stati utilizzati come gruppo di controllo.

La visita oftalmoscopica è stata effettuata per permettere l'osservazione delle componenti del settore anteriore —cornea, camera anteriore e cristallino— e del settore posteriore dell'occhio —corpo vitreo e fondo oculare. Per l'esame del settore anteriore dell'occhio è stata utilizzata una **lampada a fessura (Kowa SL-14)**, uno strumento diagnostico dotato di un microscopio binoculare e una sorgente luminosa, il quale permette l'illuminazione e l'ingrandimento delle strutture osservate. Il fascio di luce può essere modificato tramite un diaframma a formare una lama ed è possibile variare l'intensità e il colore della luce emanata (bianca o blu); un fascio di luce ampio permette di esaminare la superficie corneale e il globo oculare nel suo complesso, mentre i fasci di luce laminari consentono di osservare le diverse componenti nel dettaglio, verificando anche la trasparenza dei mezzi diottrici. Per una completa analisi del cristallino e la visualizzazione del fondo oculare, è stata necessaria la somministrazione di un collirio midriatico. Nella pratica ambulatoriale viene comunemente utilizzata l'associazione Tropicamide (10%) e Fenilefrina Cloridrato (0,5%), ma è opportuno specificare che in molti dei cani valutati in questo studio non è stato utilizzato alcun agente midriatico, in quanto già presente una midriasi per nulla o scarsamente responsiva alla luce.

L'esame del segmento posteriore dell'occhio, ovvero del corpo vitreo e del fondo oculare (retina e coroide) è stato effettuato con **oftalmoscopio indiretto (Omega 180)**, il quale ne permette l'osservazione, tramite interposizione di una lente biconvessa da 20 e 30 diottrie, tra la fonte di luce e l'occhio del paziente. L'immagine che si ottiene è virtuale, ingrandita 2-4 volte, invertita e capovolta. Con la fundoscopia sono stati esaminati la zona tappetale, la zona non tappetale, la papilla ottica e i vasi sanguigni venosi e arteriosi.

Nei casi in cui la trasparenza dei mezzi diottrici ha permesso l'osservazione del fondo oculare, la presenza o l'assenza di segni oculari caratteristici, oltre a fornire in sé elementi molto utili per la diagnosi, è stata messa in relazione alle risposte ottenute con la valutazione colorimetrica del PLR. Tramite l'esame fundoscopico è stato possibile osservare alterazioni suggestive di degenerazione retinica, retinite/corioretinite, distacco retinico, glaucoma e neuropatie del nervo ottico.

Nei pazienti affetti da cataratta l'esame oftalmoscopico non ha consentito di ottenere informazioni riguardanti l'aspetto del fondo oculare, nei casi in cui l'estensione e lo sviluppo della cataratta fossero tali da impedirne la visualizzazione.

L'**elettroretinografia** è l'esame elettivo per la valutazione della funzionalità retinica, passaggio diagnostico indispensabile nei pazienti affetti da cataratta, nell'ottica di esecuzione dell'intervento chirurgico di rimozione del cristallino.

Dei 94 pazienti inseriti nell'indagine, 16 sono stati sottoposti alla procedura diagnostica di elettroretinografia con flash: 14 pazienti presentavano cataratta con fondo oculare non valutabile, mentre nei restanti 2 casi è stata eseguita allo scopo di approfondimento diagnostico in corso di deficit visivo, in assenza di alterazioni fundoscopiche evidenti.

Per i pazienti sottoposti a questa procedura, è stato applicato un protocollo di anestesia generale, all'interno del quale è stato sempre inserito il rocuronio al dosaggio di 0,03 mg/Kg per via endovenosa. Il rocuronio è un bloccante neuromuscolare che, se utilizzato a bassi dosaggi, ha un'azione selettiva sulla muscolatura estrinseca del globo oculare, permettendo un posizionamento frontale dell'occhio e, conseguentemente, una maggiore facilità di esecuzione della procedura. Inoltre, prima dell'induzione dell'anestesia, è stata applicata 1 goccia per occhio dell'associazione Tropicamide (10%) e Fenilefrina Cloridrato (0,5%), per ottenere una midriasi pupillare ottimale. Prima dell'esecuzione dell'esame, il campo visivo del paziente è stato mantenuto oscurato per almeno 20 minuti (adattamento al

buio). L'elettrodo attivo è stato applicato direttamente a contatto con la superficie corneale, previa interposizione di una goccia di soluzione oftalmica umettante e lubrificante; l'elettrodo passivo è stato applicato sottocute, a circa 2 cm lateralmente il canto laterale dell'occhio in esame; infine, l'elettrodo di base è stato applicato sottocute all'apice del cranio, in corrispondenza della prominenza occipitale. La preparazione della strumentazione è stata effettuata in un ambiente buio e il paziente esaminato è stato posizionato in decubito laterale o sternale alla distanza di 20 cm tra l'occhio e la lampada allo xenon. La stimolazione luminosa è stata caratterizzata da 10 flash di luce bianca con un'energia di 0,5 Joule e una frequenza di 1 Hertz, per la durata complessiva di 250 ms per occhio; i dati sono stati acquisiti da un sistema computerizzato con software dedicato (Fig. I-II).

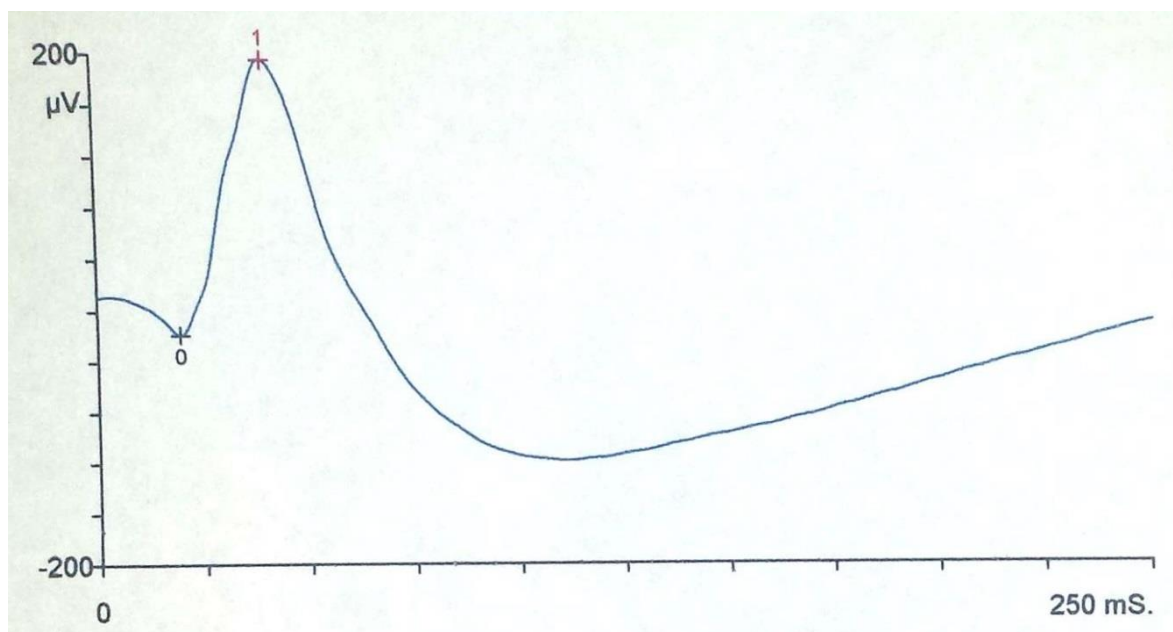


Figura I- Tracciato elettroretinografico normale

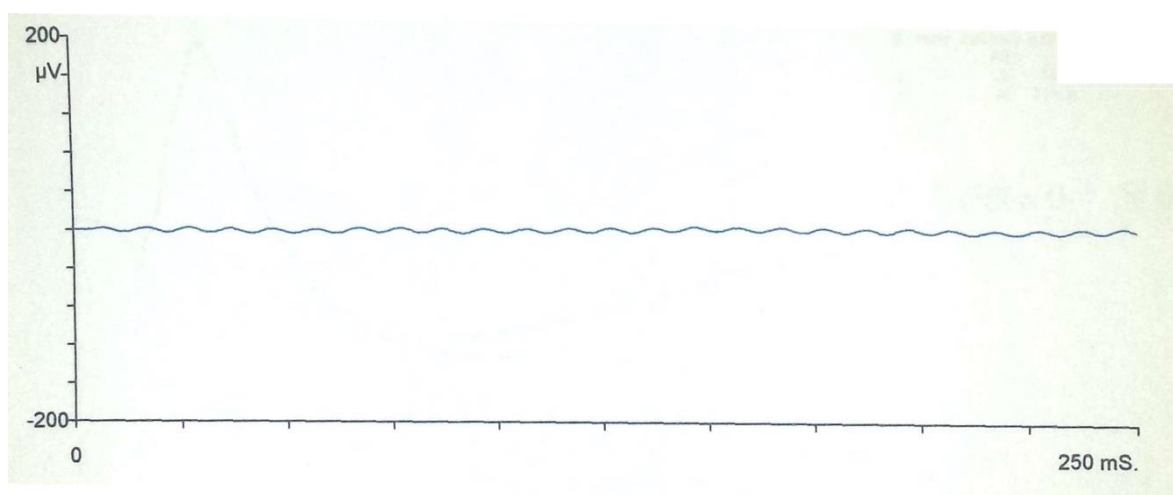


Figura II-Tracciato elettroretinografico piatto

Capitolo VII

Risultati

Da un'analisi dei dati di segnalamento, la popolazione oggetto di studio è rappresentata per il 51% da cani di sesso maschile e per il 49% dal sesso femminile.

Per quanto riguarda l'età dei pazienti, è stata effettuata una suddivisione in base a tre fasce, considerando il cane: giovane, dalla nascita fino a 18 mesi; adulto, dai 18 mesi agli 8 anni; anziano, oltre gli 8 anni. In base a questa classificazione, i pazienti in esame sono distribuiti con una percentuale del 6% per quanto riguarda il soggetto giovane, del 49% per il soggetto adulto e del 45% per l'anziano (Tabella I); l'età media dei pazienti in esame è stata di 7,7 anni, con una mediana di 6.

	Maschi	Femmine	Totale
Giovani	3	3	6
Adulti	23	23	46
Anziani	22	20	42
Totale	48	46	94

Tabella I- Sesso ed Età

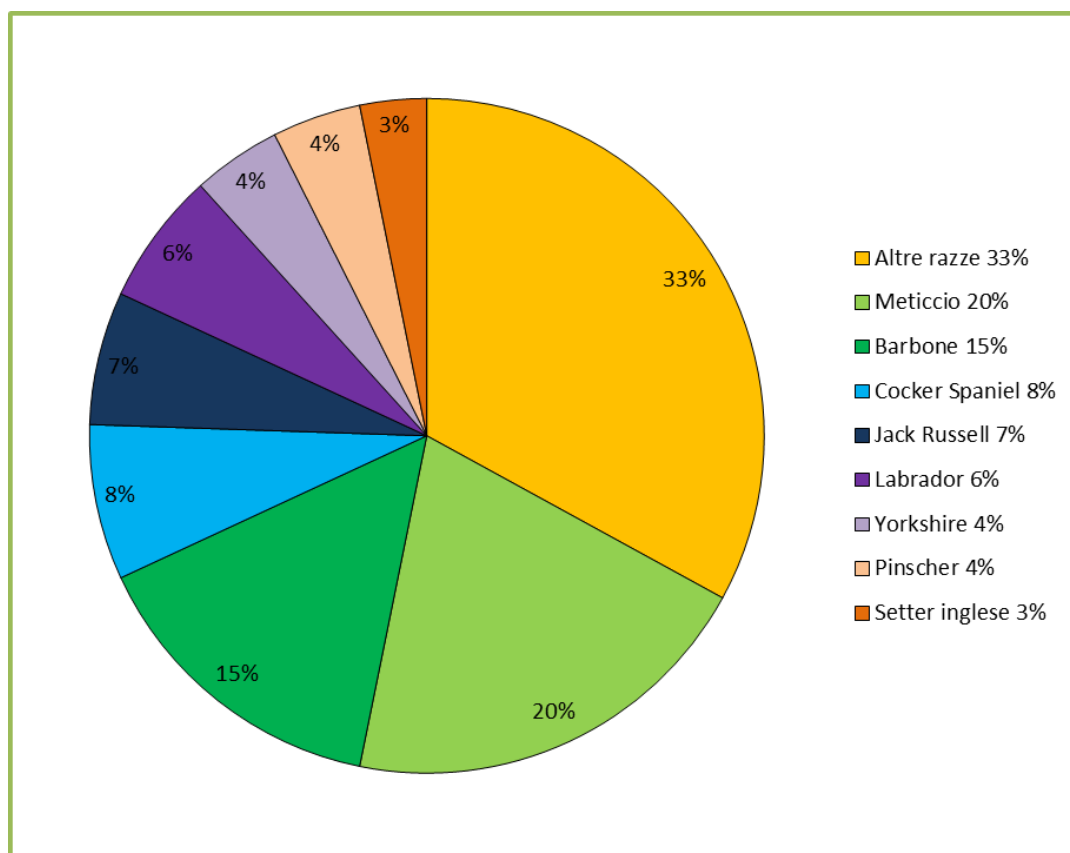


Figura III- Razze

Per quanto riguarda la razza, il gruppo più numeroso è stato rappresentato dai meticci (19/94, 20%), seguito da Barbone (14/94, 15%), Cocker Spaniel Inglese (7/94, 8%), Jack Russell Terrier (6/94, 7%) e Labrador Retriever (6/94, 6%) (Fig. III).

Il gruppo di controllo dei cani con funzione visiva normale è costituito da 4 soggetti, due maschi e due femmine, di età compresa tra i 2 e i 10 anni.

In 73/94 casi (77,6%) è stato possibile giungere alla conferma diagnostica della patologia oculare causata da deficit visivo, tramite ulteriori accertamenti

oltre alla valutazione colorimetrica del PLR, quali visita oculistica completa con esame neuroftalmico, misurazione tonometrica della pressione intraoculare, visita specialistica neurologica, elettroretinografia, risonanza magnetica.

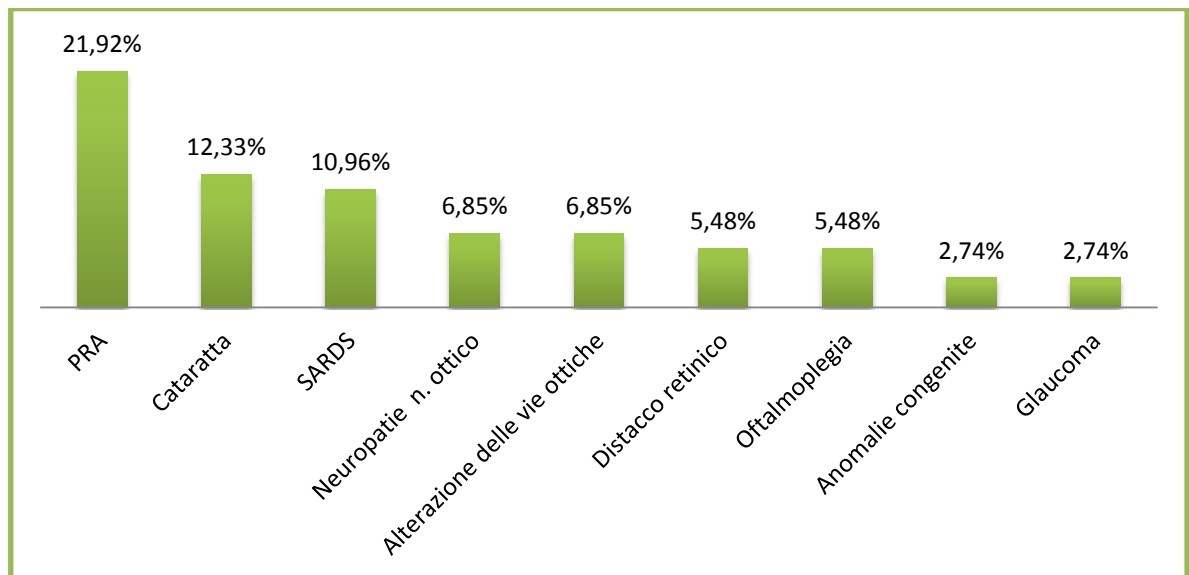


Figura IV- Prevalenza sulle diagnosi confermate

Considerando, dunque, solamente le diagnosi confermate, sono risultati affetti da una singola patologia causa di deficit visivo 55/73 pazienti (75,3%). Nel dettaglio, 16/73 pazienti (21,9%) sono risultati affetti da degenerazione retinica, 9/73 (12,3%) da cataratta, 8/73 (11%) da SARDS, 5/73 (6,8%) da neuropatie del nervo ottico, 5/73 (6,8%) da alterazioni delle vie ottiche/lesioni a carico del SNC, 4/73 (5,5%) da distacco retinico, 4/73 (5,5%) da oftalmoplegia, 2/73 (2,7%) da anomalie congenite e 2/73 (2,7%) da glaucoma (Figura IV).

In 18/73 pazienti (26%) sono state diagnosticate due patologie concomitanti causa del deficit visivo; in 14/73 casi (19,2%) è stata osservata cataratta secondaria a degenerazione retinica, in 2/73 (2,7%) sono state diagnosticate cataratta primaria e neuropatia del nervo ottico, in 1/73 casi (1,4%) cataratta primaria e distacco retinico, in 1/73 casi (1,4%) neuropatia del nervo ottico e distacco retinico (Fig. V).

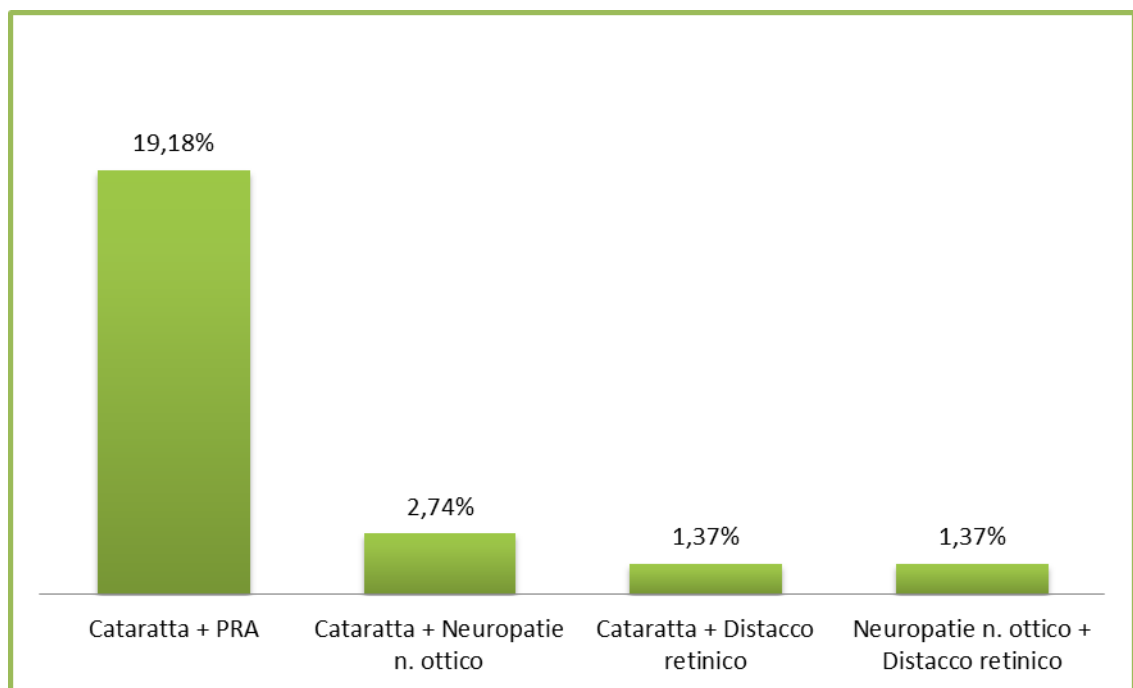


Figura V- Patologie concomitanti sulle diagnosi confermate

In 14/94 casi (14,9%) è stato possibile ottenere solo una diagnosi presuntiva tramite la valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore, non possedendo

altri elementi utili alla conferma diagnostica e non avendo eseguito ulteriori indagini di approfondimento per volontà dei proprietari.

Sono stati classificati come casi dubbi 7/94 pazienti (7,4%), tutti anziani, in cui la valutazione colorimetrica del PLR non ha fornito alcuna informazione utile alla formulazione di un'ipotesi diagnostica, in associazione a segni clinici poco chiari e alla mancanza di ulteriori indagini per volontà dei proprietari.

La diagnosi di **degenerazione retinica primaria** è stata formulata tramite raccolta dei dati anamnestici, visita oculistica completa con esame fundoscopico e, nei casi di contemporanea presenza di cataratta matura o ipermatura con impossibilità di osservare il fondo oculare, elettroretinografia. La degenerazione retinica è stata diagnosticata in 30/73 pazienti (41,1%), di cui 16/30 presentavano solo PRA bilateralmente, 11/30 avevano sviluppato secondariamente una cataratta bilaterale e 3/30 presentavano PRA bilaterale con sviluppo di cataratta secondaria monolaterale. In 1 paziente su 30 la patologia è stata osservata monolateralmente, ma si è trattato di un caso particolare in cui l'occhio controlaterale era in tesi.

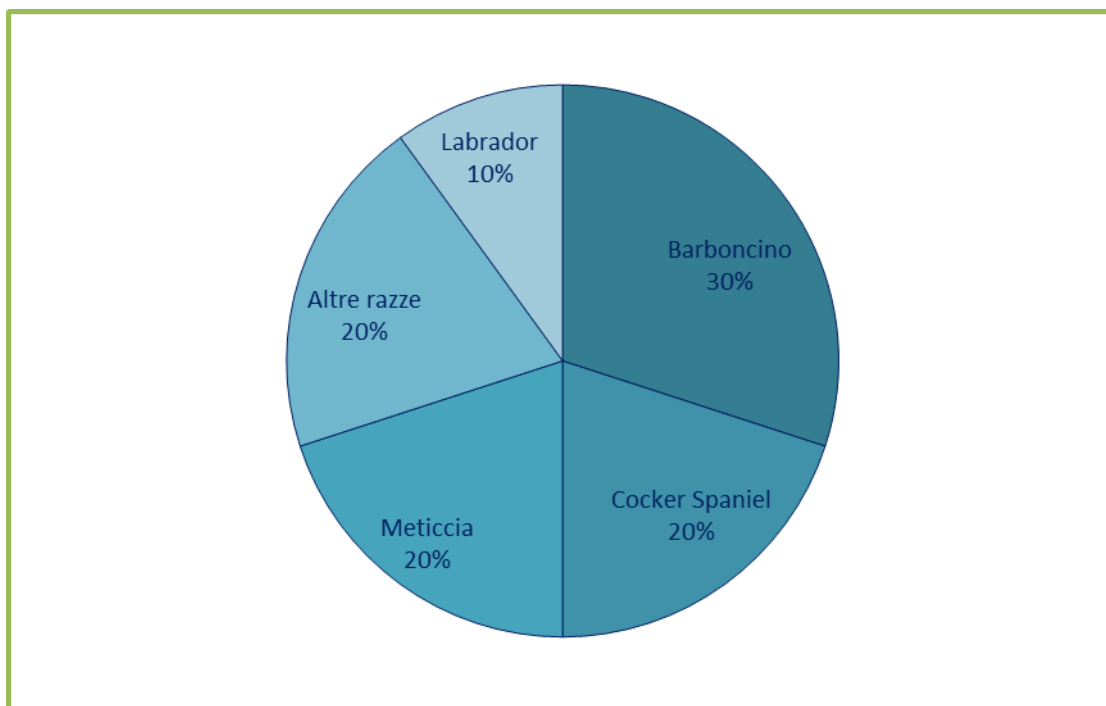


Figura VI-Razze e PRA

L'età dei soggetti affetti da tale patologia è risultata equamente distribuita tra la fascia adulta, con 15/30 casi (50%) e la fascia anziana, con 14/30 casi (46,7%), mentre solo in 1 caso (2,63%) è stata diagnosticata una forma degenerativa in un soggetto giovane.

Il Barbone è stata la razza maggiormente rappresentata con 9/30 pazienti (30%), seguita dal Cocker Spaniel Inglese con 6/30 casi (20%) e dal Labrador Retriever con 3/30 casi (10%), mentre il 20% è stato rappresentato da meticci (Fig. VI).

In 6/30 casi la presenza della concomitante cataratta non ha consentito l'osservazione del fondo oculare, pertanto la conferma diagnostica, dopo i risultati ottenuti con la valutazione colorimetrica del PLR, è stata raggiunta attraverso l'esame elettroretinografico. Nei restanti 24/30 casi l'esame fundoscopico ha permesso di effettuare una diagnosi di conferma, tramite l'osservazione delle lesioni retiniche caratteristiche in corso di PRA.

La valutazione colorimetrica del PLR ha fornito in 28/30 casi (93,3%) risultati compatibili con gli altri dati clinico-diagnostici raccolti, ovvero l'insorgenza della patologia caratterizzata da cecità scotopica, alterazioni caratteristiche visibili all'esame fundoscopico, tracciato elettroretinografico piatto. In 1 caso il risultato ottenuto è stato falso negativo, mentre in 1 caso la risposta pupillare, conseguente alle diverse stimolazioni luminose, è risultata non conforme rispetto alle alterazioni visibili sul fondo, per un totale di 2 errori su 30 casi di PRA (6,7%).

La valutazione colorimetrica del PLR nei pazienti affetti da cataratta è stata eseguita per formulare una diagnosi differenziale di primo livello tra cataratta primaria e cataratta secondaria a degenerazione retinica. La **cataratta**, non associata ad altre patologie oculari —e quindi classificabile come primaria, è stata diagnosticata in 9/73 pazienti (12,3%). La diagnosi è stata effettuata tramite la raccolta dei dati anamnestici, l'esame

neurooftalmologico, la valutazione del grado di trasparenza del cristallino e, ove possibile, l'esame fundoscopico. Nei pazienti con cataratta matura o ipermatura, condizioni che non consentono l'osservazione del fondo oculare, la diagnosi di cataratta non associata ad alterazioni del fondo è stata confermata dall'elettroretinografia. In particolare, solo in 2/9 pazienti è stato possibile escludere la presenza di alterazioni del fondo in base alla normale visita oculistica, nei restanti 7/9 si è reso necessario effettuare un esame elettroretinografico. In quasi la totalità dei casi di cataratta primaria (8/9), la lesione era presente bilateralmente. In 8/9 pazienti (88,9%) la valutazione colorimetrica ha fornito risultati compatibili con gli altri elementi clinico-diagnostici a disposizione, ovvero risposta positiva alla stimolazione del PLR con luce bianca e al *dazzle reflex* e un tracciato elettroretinografico normale. In 1/9 (11,1%) il dato è risultato falso positivo.

La cataratta primaria associata ad altre patologie oculari causa di deficit visivo è stata riscontrata in 3/73 pazienti (4,1%), in tutti l'alterazione concomitante è stata diagnosticata grazie all'esame fundoscopico. In particolare, in 2/73 pazienti la cataratta primaria era associata ad una neuropatia del nervo ottico e in 1/73 era associata a distacco retinico. In questi 3 pazienti, la valutazione colorimetrica del PLR ha fornito risultati

conformi a quanto osservato tramite la visita neuroftalmologica e l'esame fundoscopico.

La diagnosi di cataratta secondaria a degenerazione retinica ha riguardato 14/73 pazienti (19,2%), in 6 dei quali non è stato possibile effettuare la valutazione del fondo oculare e la diagnosi è stata confermata dall'esame elettroretinografico. In 13/14 pazienti la valutazione colorimetrica del PLR ha fornito risultati compatibili con gli altri dati anamnestici e diagnostici, mentre in 1/14 il risultato ottenuto è stato falso negativo.

Considerando tutti i pazienti con diagnosi di cataratta, è stato possibile, dunque, classificare come affetti da cataratta primaria 9/73 pazienti, da cataratta primaria associata ad altre patologie oculari 3/73 pazienti e da cataratta secondaria a degenerazione retinica 14/73 pazienti, per un totale di 26/73 casi (35,6%) (Tab. II).

Cataratta I	9
Cataratta I associata	3
Cataratta II	14
Tot.	26

Tabella II- Prevalenza cataratta

La valutazione colorimetrica del PLR è risultata attendibile in 24/26 casi, il 92,3% dei casi di cataratta (primaria, primaria associata ad altre patologie oculari causa di deficit visivo e secondaria a degenerazione retinica).

La razza più rappresentata tra i cani affetti da cataratta di varia eziologia è stata il Barbone, con 5/26 casi (19,2%), seguita da Labrador Retriever e dal Cocker Spaniel, entrambi con 4/26 casi (15,4%) (Fig. VII).

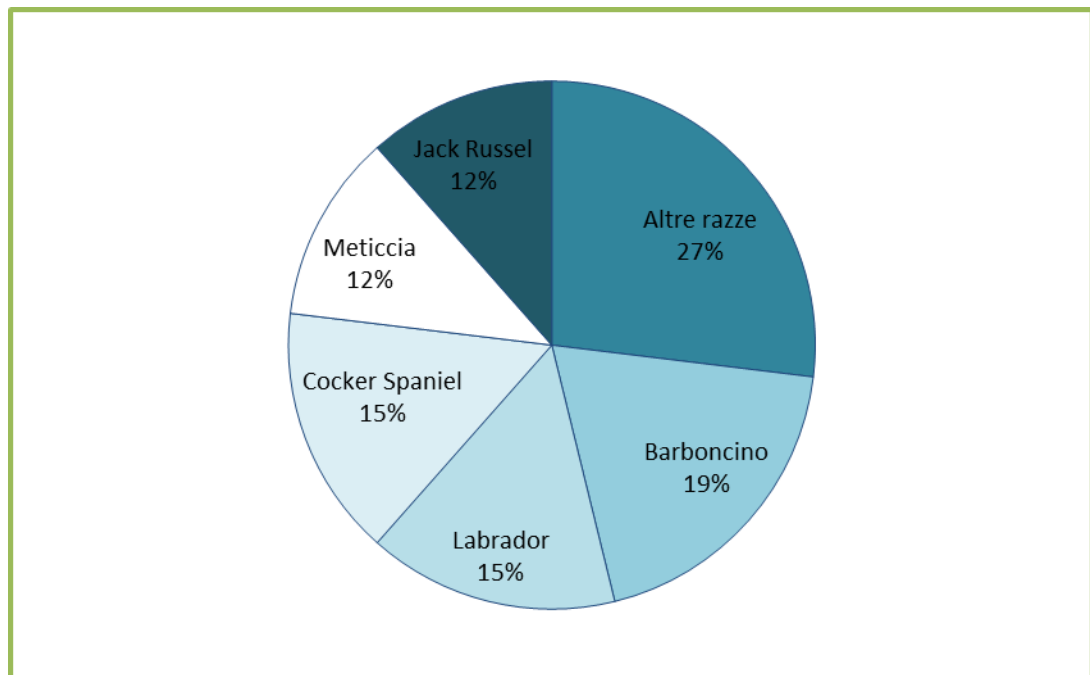


Figura VII- Razze e cataratta

La diagnosi di **SARDs** è stata formulata per 8/73 pazienti (11%) grazie alla raccolta dei dati anamnestici, all'esecuzione di una visita oculistica completa e, in 2/8 pazienti, di un esame elettroretinografico, eseguito nonostante fosse visibile il fondo oculare. Nella maggior parte dei casi (5/8, 62,5%), i pazienti affetti da questa patologia sono rientrati nella fascia di età anziana. In tutti i pazienti affetti da SARDs (8/8, 100%), la valutazione colorimetrica ha fornito

risultati compatibili con i dati clinico–diagnostici raccolti, ovvero insorgenza improvvisa della cecità, assenza di alterazioni osservabili sul fondo oculare, tracciato elettroretinografico piatto.

Per quanto riguarda le **neuropatie del nervo ottico**, la diagnosi è stata formulata per 8/73 pazienti (11%) a seguito dell'analisi dei dati anamnestici, dell'esecuzione di una visita oculistica completa —con particolare rilevanza dell'osservazione di lesioni riguardanti la papilla ottica all'esame del fondo oculare. In 5/8 (62,5%) la patologia si presentava bilaterale; nel dettaglio, in 2/8 casi entrambi gli occhi erano colpiti dalla sola neuropatia, in 1/8 alla neuropatia era associata la cataratta, in 1/8 un occhio era affetto da neuropatia e il controlaterale da neuropatia associata a cataratta e, infine, in 1/8 sono state diagnosticate bilateralmente neuropatia del nervo ottico associata a distacco retinico. I pazienti che hanno ricevuto diagnosi di neuropatia del nervo ottico sono risultati equamente distribuiti nelle categorie di adulti e anziani. La valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore ha fornito risultati compatibili con i dati clinici osservati, ovvero i dati anamnestici e l'osservazione sul fondo oculare di lesioni a carico della papilla ottica.

In 6/73 casi (8,2%) è stato possibile diagnosticare **distacco retinico**, in base alla raccolta dei dati anamnestici e alla visita oculistica completa, con

particolare riferimento alla valutazione del fondo oculare. In 5/6 casi la patologia era presente in entrambi gli occhi, nel restante caso si presentava monolaterale e associata a cataratta. In 1 paziente, oltre al distacco retinico, era presente neuropatia del nervo ottico, come già descritto precedentemente. In 5/6 casi la valutazione colorimetrica del PLR ha fornito risultati compatibili con i dati clinici, ovvero in particolare con l'osservazione, all'esame fundoscopico, della retina distaccata. In uno dei casi (16,7% dei pazienti con diagnosi di distacco retinico) è stata rilevata una mancata corrispondenza tra la risposta pupillare con luce blu e il quadro clinico osservato.

Il 6,8% dei pazienti, ovvero 5/73, presentava caratteristiche cliniche riconducibili ad **alterazioni delle vie ottiche/lesioni a livello del SNC**, ovvero cecità mono o bilaterale, in assenza di alterazioni osservabili alla visita oculistica, con una risposta normale all'evocazione del PLR con luce bianca e con valutazione colorimetrica. La sintomatologia bilaterale in 3/5 pazienti ha fatto supporre una patologia centrale, confermata in 1 caso di un paziente anziano con sintomatologia neurologica, nel quale è stata effettuata una risonanza magnetica. I restanti 2/5 pazienti presentavano una sintomatologia monolaterale, con l'occhio controlaterale visivo, suggerendo, dunque, una lesione alle vie ottiche ipsilaterali.

L'**oftalmoplegia** è stata diagnosticata in 4/73 pazienti (5,5%); questi cani sono risultati visivi alla visita clinica, rispondendo positivamente alla reazione di minaccia, ma presentavano una mancata risposta all'evocazione del PLR con luce bianca e con valutazione colorimetrica. In 1/4 l'alterazione si presentava bilaterale e in questo paziente la diagnosi è stata confermata a seguito di un'ulteriore visita specialistica neurologica, così come in 1 paziente in cui la sintomatologia appariva monolaterale. In 1 caso la diagnosi è stata rafforzata dall'osservazione, già durante la visita oculistica, di altri segni clinici neurologici suggestivi (paziente affetto da oftalmoplegia interna associata a oftalmoplegia esterna) e in 1 caso tramite il test della pilocarpina, eseguito con una diluzione all'1%. In tutti i casi in esame, la valutazione colorimetrica del PLR ha fornito risultati conformi al quadro clinico, ovvero assenza di risposta allo stimolo.

La valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore è stata effettuata anche su 2/73 pazienti (2,7%) affetti da **glaucoma** e su 2/73 pazienti (2,7%) cuccioli con **anomalie oculari congenite**, risultando attendibile in relazione alle valutazioni cliniche utili alla diagnosi di queste patologie.

I 4 cani di controllo alla visita oculistica non presentavano alcuna alterazione oculare e si mostravano perfettamente visivi; la valutazione

colorimetrica in questi soggetti ha fornito i risultati attesi, ovvero un normale riflesso fotomotore con tutte le diverse fonti di luce.

Considerando, dunque, la popolazione campione in cui è stato possibile giungere a una diagnosi definitiva della patologia e i 4 soggetti clinicamente sani, è possibile suddividere le risposte ottenute con la valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore in base alla seguente tabella (Tab. III):

	Test +	Test -		
Malattia +	69	3	72	Tot. Malati
Malattia -	1	4	5	Tot. Sani

Tabella III- Analisi risultati valutazione colorimetrica

I soggetti con patologia oculare in cui la valutazione colorimetrica ha fornito elementi compatibili con la diagnosi effettuata sono 69 e rappresentano il gruppo dei **veri positivi (VP)**; i soggetti presentati alla visita senza alcun deficit visivo, nei quali il riflesso fotomotore è risultato normale con entrambe le fonti di luce, rappresentano il gruppo dei **veri negativi (VN)**. Semplificando, sono stati raggruppati come **falsi negativi (FN)** sia il caso di 1 paziente in cui la valutazione colorimetrica ha fornito una risposta normale in un occhio patologico, sia i 2 pazienti in cui la risposta pupillare alle due fonti di luce non è stata compatibile con le alterazioni in atto, risultando,

dunque, falsa negativa per quella patologia. Infine, in 1 caso è stato registrato un risultato **falso positivo (FP)**.

In base a questi dati, sono stati calcolati i valori di sensibilità e specificità diagnostica. La **sensibilità diagnostica** è la capacità di un test di identificare correttamente gli animali malati, ovvero rappresenta la probabilità che un animale malato risulti positivo al test e si calcola attraverso la seguente formula (Hajian-Tilaki, 2014):

$$Se = \frac{VP}{VP + FN} = \frac{69}{72} = 0,958 \text{ (96\%)}$$

La **specificità diagnostica** è la capacità di identificare correttamente gli animali sani, ovvero rappresenta la probabilità che un animale sano risulti negativo al test e si calcola attraverso la seguente formula (Hajian-Tilaki, 2014):

$$Sp = \frac{VN}{VN + FP} = \frac{4}{5} = 0,8 \text{ (80\%)}$$

Capitolo VIII

Discussioni

L'indagine si è prefissa l'obiettivo di dimostrare l'efficienza della valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore come ausilio diagnostico nella clinica oculistica del cane, affiancandola alle procedure —già di routine— della visita neurooftalmologica ed eventualmente ad accertamenti diagnostici di secondo livello, come l'elettroretinografia e la risonanza magnetica.

Lo studio è stato svolto su una popolazione di 94 cani portati alla visita per deficit visivo e 4 cani con funzione visiva normale, selezionati nell'arco di 31 mesi. All'interno della popolazione, sono state riscontrate 9 patologie oculari causa di alterazioni della funzione visiva e sono, in ordine di maggior riscontro: PRA (*Progressive Retinal Atrophy*), cataratta, SARDs (*Sudden Acquired Retinal Degeneration syndrome*), neuropatie del nervo ottico, alterazioni delle vie ottiche, distacco retinico, oftalmoplegia, anomalie congenite, glaucoma.

Di questa popolazione, è stato possibile giungere a una diagnosi definitiva in 73/94 pazienti (77,6%) tramite valutazione colorimetrica e visita oculistica completa, associate a ulteriori pratiche clinico-diagnostiche in base al caso specifico, ovvero: misurazione della IOP, test della pilocarpina, visita neurologica, elettroretinografia, risonanza magnetica.

La valutazione colorimetrica in 69/73 casi (94,5%) —per un totale di 73,4%, considerando il campione globale di 94 pazienti— ha dimostrato di essere un esame efficiente nella diagnosi differenziale delle patologie causa di deficit visivo, integrando i dati da essa ottenuti con le informazioni cliniche a disposizione. In 4/73 pazienti (5,5%) —il 4,3% del campione totale, al contrario, i risultati derivanti dalla valutazione colorimetrica si sono mostrati incongruenti rispetto alle evidenze cliniche e diagnostiche.

In 14/94 casi (14,9%) non è stato possibile giudicare la veridicità diagnostica della valutazione colorimetrica, in quanto non sono stati effettuati ulteriori esami di approfondimento ed è stato possibile formulare solo una diagnosi presuntiva.

Infine, in 7/94 casi (7,4%) non è stato possibile formulare alcuna diagnosi presuntiva, trattandosi di quadri clinici poco chiari e non avendo fornito la valutazione colorimetrica del PLR informazioni utili alla formulazione di una diagnosi, nemmeno di tipo presuntivo. In questi 7 casi, dunque, pur

considerando la mancata esecuzione di ulteriori esami di approfondimento, la valutazione colorimetrica del PLR non si è dimostrata utile allo scopo diagnostico (Fig. VII).

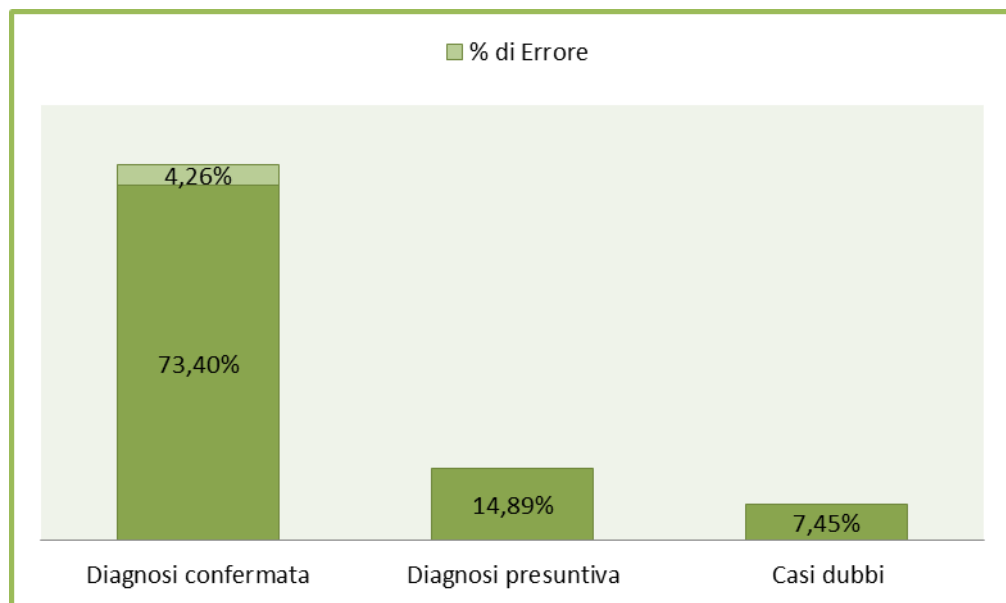


Figura VII- Panorama delle diagnosi

In corso di **degenerazione retinica**, la valutazione colorimetrica si è resa molto utile, in particolare in quei pazienti in cui l'osservazione del fondo oculare è stata ostacolata dall'opacità dei mezzi diottrici o in presenza solo di lievi alterazioni del fondo, durante lo stadio iniziale della patologia. Dei pazienti affetti da PRA inclusi in questo studio, in 19/30 casi (63,3%) l'evocazione del riflesso fotomotore con luce bianca ha dato risultati normali, mentre la risposta al *dazzle reflex* è stata normale in 15/30 pazienti

(50%), non fornendo, dunque, elementi utili all'identificazione del problema. La valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore ha permesso, al contrario, l'identificazione corretta di 28/30 casi (93,3%), dando risultati non conformi in 2/30 (6,7%). Nel dettaglio, in un Cocker Spaniel Inglese femmina anziana, la risposta pupillare dell'occhio destro è risultata positiva a seguito di entrambe le stimolazioni luminose (luce rossa e luce blu), mentre le risposte dell'occhio sinistro si mostravano compatibili con una diagnosi di degenerazione retinica. A seguito di stimolazione con luce bianca (evocazione standard del riflesso fotomotore), entrambi gli occhi rispondevano con assenza del riflesso; è stata quindi eseguita un'elettroretinografia, il cui tracciato è risultato piatto in entrambi gli occhi, confermando una diagnosi di degenerazione retinica bilaterale. In questo caso l'apparecchio per la valutazione colorimetrica ha fornito un risultato falso negativo a destra. Nel secondo errore, in un meticcio maschio adulto con degenerazione retinica visibile all'esame fundoscopico, la valutazione colorimetrica si è espressa con assenza di riflesso pupillare a tutte le fonti di luce, risposta non compatibile con il quadro clinico.

La razza più colpita da degenerazione retinica è stata il Barbone con 9/30 pazienti (30%), seguita dal Cocker Spaniel Inglese con 6/30 casi (20%) e dal Labrador Retriever con 3/30 casi (10%), compatibilmente con i dati riportati

in letteratura (Acland *et al.*, 1989; Mazzucchelli & Perruccio, 2004); il 20% è stato rappresentato da meticci (Fig. VI).

In 1/7 casi dubbi, la valutazione colorimetrica non ha fornito informazioni utili alla diagnosi differenziale tra retinite e degenerazione retinica, in un meticcio maschio anziano, con lieve deficit visivo, la cui unica alterazione visibile sul fondo oculare era una riduzione del calibro vascolare retinico. Poiché entrambe le condizioni patologiche possono determinare una risposta simile nella valutazione colorimetrica del PLR —ovvero riflesso normale se evocato dalla luce blu e ridotto quando evocato dalla luce rossa— e non avendo a disposizione altri elementi anamnestici e clinici utili alla diagnosi, questa è rimasta dubbia.

In corso di **cataratta**, soprattutto quando l'opacità del cristallino è tale da impedire la visualizzazione del fondo oculare, la valutazione colorimetrica è un test molto utile come primo *step* diagnostico nella classificazione della cataratta come primaria (associata o non associata ad altre patologie oculari causa di deficit visivo) o secondaria a degenerazione retinica. Questo passaggio diagnostico si dimostra di particolare importanza soprattutto nella pianificazione di una chirurgia della cataratta, opzione da attuare soprattutto nel soggetto giovane in cui si sospetti una forma primaria. La valutazione colorimetrica, in questi pazienti, permette un primo screening

della funzionalità retinica, consentendo un passaggio più consapevole allo *step* diagnostico successivo, ovvero l'elettroretinografia, la quale comporta una spesa aggiuntiva per il proprietario e un'anestesia generale per il paziente.

I cani più frequentemente colpiti da cataratta, di varia eziologia, appartenevano alla razza Barbone, con 5/26 casi (19,2%), seguita da Labrador Retriever e dal Cocker Spaniel, entrambi con 4/26 casi (15,4%), compatibilmente con i dati di prevalenza riportati in letteratura, sia per quanto riguarda la cataratta primaria sia per la cataratta secondaria a PRA (Priester, 1974; Aguirre & Acland, 1991; ACVO Genetics Committee, 2010) (Fig. VII).

Dei 26 pazienti affetti da cataratta (associata o meno ad altre patologie oculari), 13 hanno effettuato anche l'esame elettroretinografico, confermando in 11 casi i risultati forniti dalla valutazione colorimetrica. Uno dei due errori diagnostici in corso di cataratta è già stato descritto parlando di degenerazione retinica, il secondo errore diagnostico riguarda un Barbone femmina adulta, in cui, nonostante una risposta normale all'evocazione del riflesso con luce bianca, entrambi gli occhi rispondevano alla stimolazione del PLR con luce rossa in modo compatibile con la diagnosi di degenerazione retinica (rallentamento del riflesso associato a *escape*).

Effettuando l'esame elettroretinografico, entrambi gli occhi hanno mostrato una funzionalità retinica normale: in questo caso, dunque, si è trattato di un falso positivo bilaterale.

In generale, su tutti i pazienti affetti da cataratta di varia origine, l'errore diagnostico ha avuto un impatto del 5% (2/26). La forma primaria è stata diagnosticata in 9/26 pazienti affetti da cataratta e in tutti questi soggetti sia il riflesso fotomotore con luce bianca sia il *dazzle reflex* hanno fornito risposte normali, sottolineando, quindi, come il problema fosse solo a livello lenticolare.

Tutti i 14/94 pazienti rimasti con diagnosi presuntiva erano affetti da cataratta, estesa e matura a un livello tale da impedire la valutazione del fondo oculare; pertanto possiamo dire che questi fossero certamente affetti da cataratta, ma che non sia stato possibile giungere a una diagnosi per quanto riguarda altre patologie causa di alterazione del *visus* in associazione ad essa. Effettuando, quindi, la sola valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore, si è giunti alla diagnosi presuntiva di cataratta primaria in 3/94 pazienti (3,2%), di cataratta secondaria a degenerazione retinica in 8/94 pazienti (8,5%), di cataratta primaria associata a neuropatia del nervo ottico in 1/94 (1%), associata ad alterazioni delle vie ottiche in 1/94 (1%) e associata a SARDs in 1/94 (1%). Quest'ultimo caso merita una

menzione particolare, in quanto, oltre alla valutazione colorimetrica —la quale ha fornito un risultato compatibile con la diagnosi di SARDs, il proprietario ha voluto effettuare l'esame elettroretinografico, il cui tracciato è risultato piatto. In base a questi elementi, però, non è possibile sostenere come certa una diagnosi di SARDs, in quanto un tracciato elettroretinografico piatto si realizza anche in corso di degenerazione retinica e distacco retinico.

La panoramica generale delle diagnosi di cataratta effettuate è riportata in figura VIII.

La valutazione colorimetrica del PLR si è rivelata particolarmente utile nella diagnosi di **SARDs**, formulata per 8/73 pazienti (11%). In corso di questa patologia, infatti, almeno durante il primo stadio, non sono presenti alterazioni patognomoniche visibili sul fondo oculare, pur essendo suggestivo il dato anamnestico di cecità a insorgenza improvvisa.

Inoltre, i pazienti affetti rispondono frequentemente in modo normale alla stimolazione del PLR con luce bianca, come dimostrato anche in questo studio, in cui il riflesso è stato evocato normalmente in 7/8 pazienti e solo in 1 caso è stato osservato come rallentato.

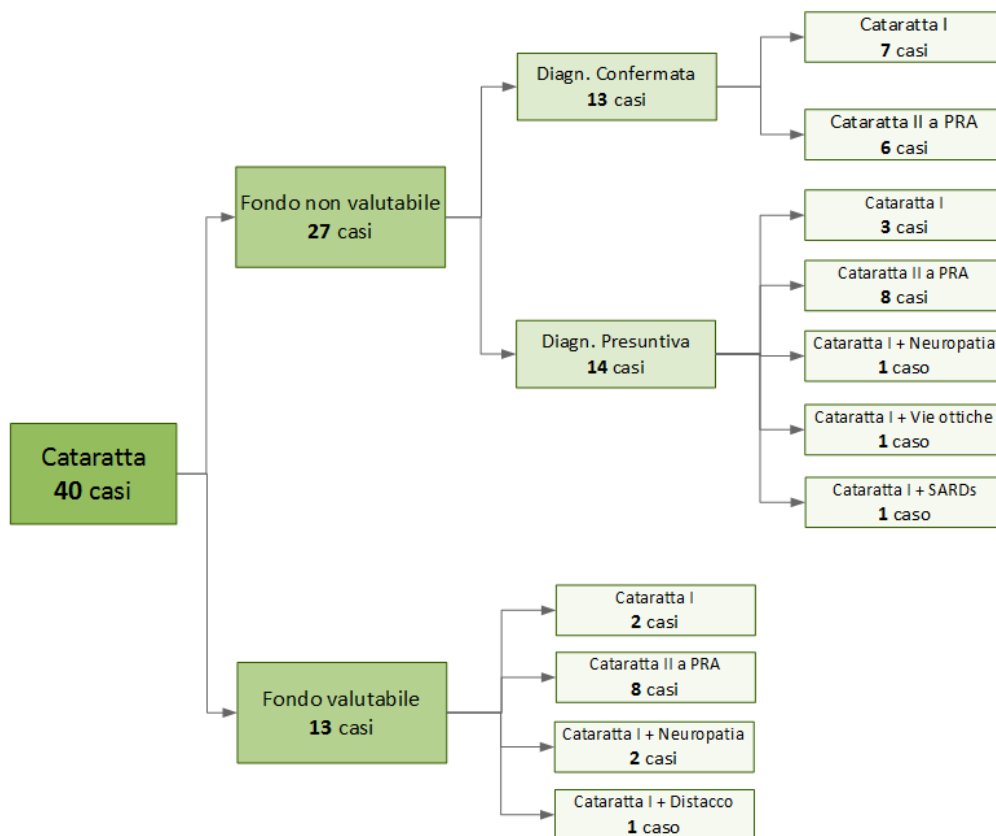


Figura VII- Panorama diagnosi cataratta

Anche il *dazzle reflex* non ha permesso una chiara definizione della patologia, comparando come normale in 2/8 pazienti, parziale in 4/8 e negativo in 2/8. La valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore ha fornito risultati soddisfacenti in tutti i pazienti affetti da SARDs; in 2/8 casi è stato effettuato anche l'esame elettroretinografico, nonostante in tutti fosse visibile il fondo oculare e non fossero presenti alterazioni, caratteristica tipica di questa patologia. Tale esame ha confermato l'ipotesi diagnostica formulata attraverso la valutazione colorimetrica del PLR.

In 3/7 pazienti appartenenti al gruppo dei casi dubbi, non è stato possibile effettuare una diagnosi differenziale tra degenerazione retinica e SARDs; nella forma cronica di quest'ultima, infatti, insorgono lesioni degenerative a carico della retina che non permettono, a un'analisi del fondo, di distinguerla da una forma di PRA. A favore della diagnosi dell'una o dell'altra, rimangono le informazioni anamnestiche le quali, però, non sempre risultano esaustive. Nel dettaglio, in 2 di questi casi dubbi la valutazione colorimetrica avrebbe fatto propendere per una diagnosi di SARDs, mentre nel caso restante avrebbe dato un risultato compatibile con degenerazione retinica. In un altro caso dei 7 rimasti incerti, la diagnosi differenziale è stata tra SARDs e retinite immunomediata, a causa dell'osservazione fundoscopica di alterazioni del colore della papilla ottica e attenuazione della vascolarizzazione, segni clinici caratteristici della seconda patologia. In questi 4 casi è stato possibile osservare il fondo oculare e non sono stati fatti ulteriori accertamenti diagnostici.

In tutti gli 8/73 pazienti che hanno ricevuto la diagnosi di **neuropatia del nervo ottico** è stata possibile la valutazione del fondo oculare, con l'osservazione di alterazioni a carico della papilla ottica. La valutazione colorimetrica del PLR ha fornito dati compatibili con questa osservazione, non riportando dunque errori diagnostici, ma è opportuno sottolineare come

sia risultata sempre negativa anche la risposta all'evocazione del riflesso fotomotore con luce bianca. Per quanto riguarda il *dazzle reflex*, invece, è stato evocato normalmente in 2/8 casi (25%) ed è risultato parziale in 3/8 (37,5%). La forma infiammatoria —neurite del nervo ottico— è stata quella di maggior riscontro con 8/9 casi, in 2/8 casi la neurite si è presentata in associazione a cataratta primaria e in 1 paziente —con diagnosi di erlichiosi, in seguito confermata da esami di laboratorio— in associazione a distacco retinico. In 1 paziente, grazie alla valutazione del fondo oculare, è stata identificata un'ipoplasia della papilla ottica monolaterale.

La diagnosi di **alterazioni delle vie ottiche/lesioni a livello del SNC** è stata formulata, tranne in 1 caso, per esclusione di tutte le altre cause di deficit visivo. I 5 pazienti, infatti, si presentavano alla visita con cecità, assenza di alterazioni a livello del fondo oculare, normale riflesso fotomotore evocato con luce bianca e valutazione colorimetrica normale con entrambe le fonti di luce: tutte caratteristiche compatibili con alterazioni —di cui non è stato possibile definire, tranne in 1 caso, l'eziologia— a monte del chiasma ottico. Le risposte ottenute dall'evocazione del *dazzle reflex* non sono state utili, risultando parziali in 2/5 casi e normali nei restanti 3. In 2/5 pazienti il deficit era presente monolateralmente, facendo, dunque, supporre una lesione ipsilaterale a carico delle vie ottiche; nei 3/5 pazienti in cui il deficit

si presentava bilaterale si presuppone, con maggiori probabilità, una diagnosi di cecità centrale. In particolare, in 1 dei pazienti con sintomatologia bilaterale, la diagnosi di cecità centrale è stata confermata dall'esecuzione di una risonanza magnetica presso un'altra struttura, la quale ha evidenziato un assottigliamento della corteccia cerebrale, dovuta all'età senile avanzata (17 anni).

Per 1 dei 7 casi dubbi è stata ipotizzata una diagnosi di alterazione delle vie ottiche/lesione a livello del SNC, in quanto il soggetto anziano (13 anni) mostrava, oltre alla cecità, anche altri sintomi neurologici. Purtroppo, in questo caso, la valutazione colorimetrica non ha potuto fornire elementi utili alla diagnosi, essendo presente, in concomitanza, una marcata atrofia iridea bilaterale, evidente ostacolo all'evocazione del riflesso fotomotore.

In tutti i pazienti in cui è stata formulata diagnosi di **distacco retinico** (6/73) è stato possibile valutare il fondo oculare e osservarne l'aspetto caratteristico in corso di questa lesione. Solo in 1 caso la lesione si presentava monolaterale e in associazione a cataratta, la cui estensione permetteva, in ogni modo, l'esame fundoscopico. Per quanto riguarda l'evocazione del riflesso fotomotore con luce bianca, in 2/6 (33,3%) pazienti si presentava normale, mentre è stata classificata come incompleta in 3/6 (50%) e negativa in 1/6 (16,6%); il *dazzle reflex*, invece, è risultato negativo in 2/6 (33,3%)

casi, parziale in 3/6 (50%) e normale in 1/6 (16,6%). La valutazione colorimetrica ha riportato risposte compatibili con la diagnosi in 5/6 pazienti (83,3%), mentre nel restante caso ha generato un errore diagnostico: una Springer Spaniel Inglese di 5 mesi, la quale mostrava un evidente distacco retinico bilaterale all'esame del fondo, ha risposto con assenza di riflesso fotomotore sia alla luce rossa sia alla luce blu, quadro non compatibile con il distacco retinico. In 1 dei 6 casi, come già descritto in precedenza, al distacco retinico era associata una neurite del nervo ottico per una forma infettiva da erlichiosi.

L'**oftalmoplegia**, come causa di alterazione del riflesso fotomotore, è stata diagnosticata in 4/73 pazienti (5,5%) e in 3 di questi come monolaterale. In 1 paziente erano presenti altri segni clinici neurologici evidenti (in particolare ptosi palpebrale) i quali hanno consentito di formulare la diagnosi di oftalmoplegia completa, ovvero sia interna che esterna. In 2/4 pazienti la diagnosi è stata approfondita tramite visita specialistica neurologica, definendo in 1 paziente una forma di oftalmoplegia interna monolaterale e in 1 paziente la diagnosi di sindrome mesencefalica, di cui l'oftalmoplegia (bilaterale) rappresenta solo uno dei sintomi. Infine, nel rimanente dei 4 casi, la diagnosi definitiva è stata formulata a seguito di esecuzione del test della pilocarpina diluita all'1%, a seguito del quale

l'occhio affetto ha manifestato miosi più rapidamente rispetto al controlaterale. Occorre specificare che l'oftalmoplegia non è una patologia causa di deficit visivo e il paziente viene portato alla visita oculistica per l'osservazione, da parte del proprietario, di una midriasi ambientale permanente, per la quale l'animale può mostrare anche segni di disagio, soprattutto in presenza di illuminazione intensa. Trattandosi di una paralisi del nervo oculomotore, la valutazione colorimetrica non fornisce particolari informazioni aggiuntive rispetto all'evocazione standard del riflesso con luce bianca; in tutti i 6 pazienti affetti il *dazzle reflex* era normalmente presente.

L'ultimo dei 7 casi rimasti dubbi riguarda una femmina meticcina di 9 anni, in cui il quadro clinico generale faceva ipotizzare una diagnosi di oftalmoplegia monolaterale, smentita però dalla valutazione colorimetrica. Alla visita il soggetto si presentava visivo con anisocoria per midriasi monolaterale, assenza di riflesso fotomotore con luce bianca e assenza di alterazioni del fondo oculare, ma ha mostrato un riflesso, seppur incompleto, a seguito di stimolazione con le luci rossa e blu. Non essendo stato eseguito nessun altro approfondimento diagnostico, non è stato possibile formulare una diagnosi in questa paziente.

La diagnosi di **glaucoma** tramite valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore è stata fatta solo in 2 casi, ma non si tratta della totalità dei

pazienti con questa patologia osservati nell'ambulatorio di oculistica nell'arco dei 31 mesi in cui è stata svolta l'indagine. La valutazione colorimetrica del PLR è un esame in grado di recepire le alterazioni indotte dallo stato glaucomatoso, ma non rappresenta il test elettivo per la sua diagnosi, che viene eseguita primariamente in base ai segni clinici del paziente (disagio oculare, segni sistemici di dolore, in alcuni casi buftalmo) e, soprattutto, alla misurazione della pressione intraoculare tramite tonometria.

Nello studio sono rientrati anche 2 cuccioli (2 e 4 mesi) che riportavano gravi **anomalie congenite oculari**, tali da determinare deficit visivo e alterazioni del riflesso fotomotore. Nel dettaglio, una femmina di American Staffordshire di 4 mesi presentava anomalie oculari multiple, con assenza di reazione di minaccia, assenza del *dazzle reflex* e riscontri negativi alla valutazione del riflesso fotomotore con qualsiasi fonte luminosa. Nel secondo caso, un Rottweiler maschio di 2 mesi, l'alterazione del riflesso fotomotore si presentava monolateralmente a tutte le fonti di luci per una forma di ipoplasia iridea. In pazienti di questo tipo, giovani e con evidenti alterazioni congenite/malformative, la valutazione colorimetrica non ha lo scopo di formulare una diagnosi differenziale, ma può rappresentare un valido ausilio nell'elaborazione di una prognosi per la funzione visiva.

Nei 4 cani utilizzati come controllo la valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore è apparsa perfettamente normale, il linea con i dati forniti dalla visita oculistica e dalla valutazione neurooftalmologica di routine.

Il valore specificità (80%) diagnostica ottenuto si discosta da quello presentato in letteratura da Grozdanic, che riporta un dato del 100%; al contrario il calcolo del valore della sensibilità diagnostica (96%) è pressoché sovrapponibile a quello di letteratura (96,2%) (Grozdanic *et al.*, 2007). È opportuno sottolineare come questi valori siano stati calcolati in modo semplificato, tenendo conto dei dati sperimentali ottenuti dal campione e non dei dati di prevalenza presenti in letteratura per ogni singola patologia, facendo riferimento più in generale all'attendibilità diagnostica differenziale dell'apparecchio. Inoltre, la popolazione campione risulta essere statisticamente limitata, il che comporta grosse variazioni percentuali anche in conseguenza di pochi errori diagnostici.

Capitolo IX

Conclusioni

L'arco temporale di 31 mesi, sul quale è stata svolta l'indagine, ha permesso di valutare il dispositivo *Melan-100®* su un discreto numero di pazienti, un gruppo variegato sia per quanto riguarda i dati di segnalamento che per la patologia oculare in atto. Il numero dei pazienti coinvolti nello studio sottolinea la frequenza con la quale si presentino alla visita —in un ambulatorio specialistico— soggetti affetti da deficit visivo, rendendo, dunque, indispensabile la presenza di un'attrezzatura adeguata all'esecuzione di una diagnosi differenziale.

Per una maggiore correttezza metodologica, è stato scelto di considerare, per l'analisi dei dati relativi alla valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore del cane, solo i casi in cui è stato possibile ottenere un riscontro diagnostico tramite la visita oculistica completa, eventualmente associata ad ulteriori approfondimenti, quali test della pilocarpina, visita neurologica, elettroretinografia, risonanza magnetica. È stato possibile, dunque,

analizzare l'efficienza diagnostica dell'apparecchio *Melan-100®* in 73/94 pazienti: la valutazione colorimetrica ha dimostrato in 69/73 casi (94,5%) di essere un esame utile nella diagnosi differenziale delle patologie causa di deficit visivo, integrando i dati da esso ottenuti con le informazioni cliniche a disposizione. In 4/73 pazienti (5,5%), al contrario, i risultati derivanti dalla valutazione colorimetrica si sono mostrati incongruenti rispetto alle evidenze cliniche e diagnostiche. Inoltre, la valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore si è dimostrata coerente anche nei 4 pazienti sani, appartenenti al gruppo di controllo.

Nel dettaglio, in corso di degenerazione retinica la valutazione colorimetrica del PLR si è mostrata molto utile alla formulazione della diagnosi, in particolar modo nei casi in cui si era sviluppata secondariamente una forma di cataratta. Nei pazienti affetti da degenerazione retinica, l'evocazione del riflesso fotomotore con luce bianca e il *dazzle reflex* non hanno permesso di ottenere informazioni riguardo lo stato di funzionamento retinico, mentre la valutazione colorimetrica ha fornito indicazioni coerenti nel 93,3% dei casi.

In presenza di cataratta, la valutazione colorimetrica ha confermato la sua importante funzione di orientamento diagnostico per stabilirne l'eziologia, fornendo informazioni utili sulle condizioni del fondo oculare, non visibile a causa dell'opacamento del cristallino. Nei pazienti affetti dalle diverse forme

di cataratta, ha fornito dati utili nel 95% dei casi, sottolineando il suo ruolo chiave nello *screening* del paziente candidato all'intervento chirurgico.

La valutazione colorimetrica ha dimostrato di avere un ruolo nella diagnosi differenziale tra le patologie causa di cecità in assenza di alterazioni del fondo, ovvero SARDs in forma acuta, neuropatie del nervo ottico post papilla, alterazioni delle vie ottiche e lesioni a livello centrale.

In tutti i pazienti affetti da SARDs, la semplice evocazione del riflesso fotomotore con luce bianca non ha fornito informazioni utili, mentre si è dimostrata diagnostica la valutazione colorimetrica.

Per quanto riguarda le alterazioni a monte del chiasma ottico, le quali non influenzano la risposta al riflesso fotomotore da parte dei fotorecettori e degli assoni delle cellule gangliari, l'evocazione del PLR con qualsiasi fonte di luce appare perfettamente normale, fornendo, dunque, indirettamente delle informazioni sulla localizzazione della lesione.

In corso di distacco di retina, la valutazione colorimetrica ha fornito ausilio diagnostico soprattutto nei casi in cui non è stato possibile valutare il fondo oculare, riportando risultati coerenti nell'83,3% dei casi, mentre l'evocazione del riflesso fotomotore con luce bianca si è rivelata piuttosto variabile.

Considerando, dunque, la totalità dei pazienti esaminati con patologia oculare, solo nel 7,5% la valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore non ha fornito elementi determinanti nel percorso diagnostico, mentre in una percentuale ancora più ridotta (4,3%) ha generato risposte fuorvianti, a fronte di un 73,4% in cui ha dimostrato di apportare informazioni coerenti con gli altri elementi diagnostici a disposizione. Infine, nei 14/94 casi (14,9%) in cui non sono stati messi in atto ulteriori approfondimenti diagnostici per volontà del proprietario, la valutazione colorimetrica ha consentito la formulazione di una diagnosi quantomeno presuntiva, aggiungendo dati utili alle considerazioni ottenibili con la sola visita oculistica di routine, senza costi aggiuntivi per il proprietario ed esami invasivi per il paziente (Fig. VII).

Alla luce di questi risultati, la valutazione colorimetrica del riflesso fotomotore, praticata tramite il dispositivo *Melan-100®*, si è rivelata essere un ottimo ausilio diagnostico nella visita oculistica del cane con deficit visivo.

Riferimenti bibliografici

- Acland G. M., Irby N. L., Aguirre G. D., Gross S. L., Nitroy S. F., *"Sudden acquired retinal degeneration in the dog: clinical and morphologic characterization of the "silent retina" syndrome"*. Transactions of the American College of Veterinary Ophthalmologists, 15, 86–104; 1984.
- Acland G. M., *"Diagnosis and differentiation of retinal diseases in small animals by electroretinography"*. Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal), 3, 15–27; 1988,
- Acland G. M., Fletcher R. T., Gentleman S., Chader G. J., Aguirre G. D., *"Non-allelism of three genes (rcd 1, rcd 2 and erd) for early-onset hereditary retinal degeneration"*. Experimental Eye Research, 49, 983–998; 1989.
- Adkins E. A., Hendrix D. V., *"Outcomes of dogs presented for cataract evaluation: a retrospective study"*. Journal of the American Animal Hospital Association, 41(4), 235–240; 2005.
- Aguirre G., Acland G., *"Inherited retinal degeneration in the Labrador retriever dog: a new animal model of RP?"*. Investigative Ophthalmology and Visual Science (Supplement), 32, 1081; 1991.

- Albert R. A., *"Lesions of the ocular fundus associated with systemic disease"*.
Journal of the American Veterinary Medical Association, 157, 1635–
1639; 1970.
- American College of Veterinary Ophthalmologists Genetics Committee,
"Ocular disorders presumed to be inherited in purebred dogs", Purdue
University; 2010.
- Anderson B.G., Anderson W.D., *"Vasculature of the equine and canine iris"*.
American Journal of Veterinary Research, 38,1791–1799; 1977.
- Andrade S. F., Palozzi R. J., Giuffrida R., De Campos R. J., Santos Gde C., Fukui
R. M., *"Comparison of intraocular pressure measurements between the
Tono-PenXL® and Perkins® applanation tonometers in dogs and cats."*
Veterinary Ophthalmology, 15 (Suppl. 1), 14–20; 2012.
- Andrew S. E., Abrams K. L., Brooks D. E., Kubilis P. S., *"Clinical features of
steroid responsive retinal detachments in twenty-two dogs"*. Veterinary
and Comparative Ophthalmology, 7, 82–87; 1997.
- Audo I., Webster A. R., Bird A. C., Holder G. E., Kidd M. N., *"Progressive
retinal dysfunction in diffuse unilateral subacute neuroretinitis"*. British
Journal of Ophthalmology, 90, 793–794; 2006.

- Barnett K. C., Cottrell B., *"Ehlers-Danlos syndrome in a dog: ocular, cutaneous and articular abnormalities"*. The Journal of Small Animal Practice, 28, 941–946; 1987.
- Barrett P.M., Scagliotti R.H., Merideth R.E., Jackson P.A., Alarcon F.L., *"Absolute corneal sensitivity and corneal trigeminal nerve anatomy in normal dogs"*. Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology, 1, 245–254; 1991.
- Bedford P. G. C., *"The aetiology of primary glaucoma in the dog"*. The Journal of Small Animal Practice, 16, 217–239; 1975.
- Bedford P. G. C., *"The clinical and pathological features of canine glaucoma"*. The Veterinary Record, 107, 53–58; 1980(c).
- Bedford P. G. C., *"Retinal pigment epithelial dystrophy (CPRA): a study of the disease in the briard"*. Journal of Small Animal Practice, 25, 129–138; 1984.
- Bedford P. G. C., (1985) *"Il glaucoma"*. In: Atlante di Oftalmologia Veterinaria, ed. Peruccio C., pp.277–334; 1985.
- Berryman F. C., De Lahunta A., Summers B. A., Rendana V. T., *"Metastatic Intracranial carcinoma in a cat"*. Journale of the American Animal Hospital Association, 17: 387–391; 1981.

- Berson D.M., Dunn F.A., Takao M., *"Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock"*. Science 295, 1070–1073; 2002.
- Bishop G. M., Clare M. C., *"Organization and distribution of fibers in the optic tract of the cat"*. Journal of Comparative Neurology, 103: 269; 1955.
- Blair N. P., Dodge J. T., Schmidt G. M., *"Rhegmatogenous retinal detachment in Labrador retrievers: I. Development of retinal tears and detachment"*. Archives of Ophthalmology, 103, 842–847; 1985(a).
- Bowmaker J.K., *"Evolution of vertebrate visual pigments"*. Vision Research, 48, 2022–2041; 2008.
- Boycott B.B., Wassle H., *"The morphological types of ganglion cells of the domestic cat's retina"*. The Journal of Physiology, 226, 397–400; 1974.
- Brandies R., Yehuda S., *"The possible role of retinal dopaminergic system in visual performance"*. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 32(4), 611–656; 2008.
- Braund K. G., *"Neurological syndromes"*. In: Clinical Neurology in Small Animals—Localization, Diagnosis and Treatment, ed. Vite C. H, International Veterinary Information; 2003.

- Briggs F., Usrey W.M., *"Corticogeniculate feedback and visual processing in the primate"*. The Journal of Physiology, 589(1), 33–40; 2011.
- Brooks D. E., Garcia G. A., Dreyer E. B., Zurakowsky D., Franco-Bourland R. E., *"Vitreous body glutamate concentration in dogs with glaucoma"*. American Journal of Veterinary Research, 58, 864–867; 1997.
- Brooks D.E., Komaromy A.M., Kallberg M.E., *"Comparative retinal ganglion cell and optic nerve morphology"*. Veterinary Ophthalmology, 2, 3–11; 1999.
- Bruyette D. S., Feldman E. C., *"Primary hypoparathyroidism in the dog. Report of 15 cases and review of 13 previously reported cases"*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 2(1), 7–14; 1988.
- Bundza A., Lowden I., Charlton K. M., *"Niemann-Pick disease in a poodle dog"*. Veterinary Pathology, 16, 530–532; 1979.
- Burke J., Hackley S.A., *"Prepulse effects on the photic eyeblink reflex: evidence for startle-dazzle theory"*. Psychophysiology, 34, 276–284; 1997.
- Buyukmichi N., *"Photoic retinopathy in the dog"*. Experimental Eye Research, 33, 95–109; 1981(b).

- Calaza K.C., Gardino P.F., De Mello F.G. *"Transporter mediated GABA release in the retina: role of excitatory aminoacids and dopamine"*. Neurochemistry International, 49(8), 769–777; 2006.
- Carter R. T., Bentley E., Oliver J. W., Stepien R. L., *"Elevations in adrenal sex hormones in canine sudden acquired retinal degeneration (SARDS)"*. Veterinary Ophthalmology, 6, 360; 2009.
- Chalupa L.M., Gunhan E., *"Development of On and Off retinal pathways and retinogeniculate projections"*. Progress in Retinal and Eye Research, 23(1), 31–51; 2004.
- Charles L. M., *"Vitreous and ocular fundus"*. In: Ophtalmic Disease in Veterinary Medicine, ed. Charles L. M., Manson Publishing, London; 422–431; 2010.
- Chylack L. T., Khu P. M., *"Subjective classification and objective quantification of human cataract"*. In: Principles and Practice of Ophthalmology, ed. Albert D. & Jakobiec F., pp.1449–1523; 2000.
- Cuddon P. A., Smith-Maxie L. *"Reticulosis of the central nervous system in the dog"*. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarians, 6, 23–32; 1984.

- Cullen C. L., Caswell J. L., Grahn B. H., *"Intravascular lymphoma presenting as bilateral panophthalmitis and retinal detachment in a dog"*. Journal of the American Animal Hospital Association, 36, 337–342; 2000.
- Cullen C. L., Rose P. L., Grahn B. H., *"Diagnostic ophthalmology. Pituitary macrotumour causing blindness"*. The Canadian Veterinary Journal, 43, 307–308; 2002.
- Curtis R., Barnett K. C., Leon A., *"Diseases of the canine posterior segment"*. In: Veterinary Ophthalmology, ed. Gelatt K. N., pp. 461–525; 1991.
- Daniel P.M., Whitteridge D., *"The representation of the visual field on the cerebral cortex in monkeys"*. The Journal of Physiology, 159, 203–221; 1961.
- Davidson M. G., Nasisse M. P., Breitschwerdt E. B., Thrall D. E., Page R. L., Jamieson V. E., English R. V., *"Acute blindness associated with intracranial tumors in dogs and cats: eight cases (1984–1989)"*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 199, 755–758; 1991.
- Dawson W. W., Kommonen B., *"The late positive retinal potential in dogs"*. Experimental Eye Research, 60, 173–179; 1995.

- De Lahunta A., Glass E., *"Visual system"*. In: Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology, ed. De Lahunta A. & Glass E., St. Louis, MO: Saunders-Elsevier. pp. 389–432; 2009(h).
- Donovan R.H., Carpenter R.L., Schepens C.L., Tolentino F.I., *"Histology of the Normal Collie Eye. II. Uvea"*. Annals of Ophthalmology, 6: 1175–1189; 1974(a).
- Donovan R. H., Carpenter R.L., Schepens C.L., Tolentino F.I., *"Histology of the Normal Collie Eye.III. Lens, Retina and Optic Nerve"*. Annals of Ophthalmology, 6: 1299 – 1307; 1974(b).
- Ducker D., *"Tonography"*. In: The Glaucomas, ed. Ritch R., Shields M.B. & Krupin T.), Vol. 2, pp. 399–406; 1996.
- Duke-Elder W. S., *"Clinical Methods of Examination, Congenital and Developmental Anomalies, General Pathological and Therapeutic Considerations. Diseases of the Outer Eye"*. In: Text-Book of Ophthalmology, Vol. II; 1938.
- Ecker J.L., Dumitrescu O.N., Wong K.Y., Alam N.M., Chen S.K., Le Gates T., Renna J.M., Prusky G.T., Berson D.M., Hattar S., *"Melanopsinexpressing retinal ganglion-cell photoreceptors: cellular diversity and role in pattern vision"*. Neuron, 67(1), 49–60; 2010.

- Ekesten B., Narfström K., *"Correlation of morphologic features of the iridocorneal angle to intraocular pressure in Samoyed"*. American Journal of Veterinary Research, 52, 1875–1878; 1991.
- Fechtner R. D., Weinreb R. N., *"Mechanisms of optic nerve damage in primary open angle glaucoma"*. Survey of Ophthalmology, 39, 23–42; 1994.
- Fecteau G., George L. W., *"Bacterial meningitis and encephalitis in ruminants"*. The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice, 20, 363–377; 2004.
- Fraser J.A., Newman N.J., Biousse V., *"Disorders of the optic tract, radiation, and occipital lobe"*. Handbook of Clinical Neurology, 102, 205–221; 2011.
- Freedman M.S., Lucas R.J., Soni B., Von Schantz M., Muñoz M., David-Gray Z., Foster R., *"Regulation of mammalian circadian behavior by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors"*. Science, 284(5413), 502–504; 1999.
- Fritsche J., Ruhli M., Spiess B., Bolliger J., *"Prolapse of the eyeball in small animals: a retrospective study of 36 cases"*. Tierärztliche Praxis, 24(1), 55–61; 1996.

- Garcia-Sanchez G. A., Gil-Carrasco F., Roman J. J., Brooks D. E., Alvarez-Clau A., Hosgood G., Iwabe S., Moreno-Mendoza N.A., *"Measurement of retinal nerve fiber layer thickness in normal and glaucomatous Cocker Spaniels by scanning laser polarimetry"*. *Veterinary Ophthalmology*, 10, 78–87; 2007.
- Gearhart P. M., Gearhart C. C., Petersen-Jones S. M., *"A novel method for objective vision testing in canine models of inherited retinal disease"*. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 49, 3568–3576; 2008.
- Gelatt K. N., *"Canine glaucomas"*. In: *Veterinary Ophthalmology*, ed. Gelatt K. N., pp. 396–428; 1991.
- Gelatt K. N., *"The canine lens"*. In: *Veterinary Ophthalmology*, ed. Gelatt K. N., pp. 429–460; 1991.
- Gelatt K. N., Brooks D. E., *"Canine glaucomas"*. In: *Veterinary Ophthalmology*, ed. Gelatt K. N., pp. 701–754; 1999.
- Gelatt K. N., MacKay E. O., *"Secondary glaucomas in the dog in North America"*. *Veterinary Ophthalmology*, 7, 245–259; 2004(b).
- Gelatt K. N., Mackay E. O., *"Prevalence of primary breedrelated cataracts in the dog in North America"*. *Veterinary Ophthalmology*, 8(2), 101–111; 2005.

- Gelatt K. N., Gilger B. C. and Kern T. J., *Veterinary Ophthalmology: Two Volume Set*, 5th ed. Wiley-Blackwell, I , 2: 130 – 158, 4: 228 – 249; 2013.
- Gilger B. C., Hamilton H. L., Wilkie D. A., Van Der Woerd A., McLaughlin S. A., Whitley R. D., *“Traumatic ocular proptoses in dogs and cats: 84 cases (1980–1993)”*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 206(8), 1186–1190; 1995.
- Glaser J. S., *“Topical diagnosis: prechiasmal visual pathways”*. In: Duane’s Clinical Ophthalmology on CD-ROM, ed. Tasman, W. & Jaeger, E.A., Vol. 2 (5); 2005.
- Glickenstein M., King R. A., Miller J., Berkley M., *“Cortical projections from the dorsal lateral geniculate nucleus of cats”*. Journal of Comparative Neurology, 130: 55; 1967.
- Gonzalez-Soriano J., Mayayo-Vicente S., Martinez-Sainz P., Contreras-Rodriguez J., Rodriguez-Veiga E., *“A quantitative study of ganglion cells in the German Shepherd dog retina”*. Anatomia, Histologia, Embryologia, 24, 61–65; 1995.

- Gottanka J., Johnson D., Martus P., Lütjen-Drecoll E., *"Severity of optic nerve damage in eyes with POAG is correlated with changes in the trabecular meshwork"*. Journal of Glaucoma, 6, 123–132; 1997.
- Goulle F., *"Sudden Acquired Retinal Degeneration in the Dog: Report of Seventeen cases and literature review"*. Revue de Médecine Vétérinaire, 161(2): 79–83; 2010.
- Gouras P., *"Saturation of the rods in rhesus monkey"*. Journal of the Optometrist Society of America, 55, 86; 1965.
- Gouras P., *"Electroretinography: some basic principles"*. Investigative Ophthalmology, 9, 557–569; 1970.
- Grahn B. H., Taylor S. M., Sandmeyer L. S., *"Diagnostic Ophthalmology"*. Canadian Veterinary Journal, 48: 321–322; 2007.
- Granit R., *"The components of the retinal action potential in mammals and their relation to the discharge in the optic nerve"*. Journal of Physiology (London), 23, 678–683; 1933.
- Griffiths I. R., Lee R., *"Ophthalmoplegia in the dog and use of cavernous sinus venography as an aid in diagnosis"*. Journal of American Veterinarian Radiology Society, 12: 22–28; 1979.

- Grozdanic S.D., Matic M., Sakaguchi D.S., Kardon R.H., *"Evaluation of retinal status using chromatic pupil light reflex activity in healthy and diseased canine eyes"*. Investigative Ophthalmology and Visual Science, 48 (11), 5178–5183; 2007.
- Grozdanic S. D., Harper M. M., Kecova H., *"Antibodymediated retinopathies in canine patients: mechanism, diagnosis and treatment modalities."* The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice, 38, 361–387; 2008.
- Güler A.D., Ecker J.L., Lall G.S., Haq S., Altimus C.M., Liao H.W., Barnard A.R., Cahill H., Badea T.C., Zhao H., Hankins M., Berson D.M., Lucas R.J., Yau K.W., Hattar S., *"Melanopsin cells are the principal conduits for rod–cone input to non–image–forming vision"*. Nature 453, 102–105; 2008.
- Gum G. G., Gelatt K. C., Samuelson D. A., *"Maturation of the retina of the canine neonate as determined by electroretinography and histology"*. American Journal of Veterinary Research, 45, 1166–1171; 1984.
- Gwin R. M., Wyman M., Ketrang K., Winston S., *"Idiopathic uveitis and exudative retinal detachment in the dog"*. Journal of the American Animal Hospital Association, 16, 163–170; 1980(c).

- Hargrave P.A., McDowell J.H., Feldmann R.J., Atkinson P. H., Mohana Rao J. K., Argos P., *"Rhodopsin's protein and carbohydrate structure: selected aspects"*. Vision Research, 24, 1487–1499; 1984.
- Hatori M., Le H., Vollmers C., Keding S.R., Tanaka N., Buch T., Waisman A., Schmedt C., Jegla T., Panda S., *"Inducible ablation of melanopsin-expressing retinal ganglion cells reveals their central role in non-image forming visual responses"*. Public Library of Science, 3, e2451; 2008.
- Hattar S., Liao H.W., Takao M., Berson D.M., Yau K.W., *"Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity"*. Science 295, 1065–1070; 2002.
- Haupt C., Huber A. B., *"How axons see their way—axonal guidance in the visual system"*. Frontiers in Bioscience, 13, 3136–3149; 2008.
- Hayreh S. H., *"Anatomy and physiology of the optic nerve head"*. Transactions—American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology, 78, 240; 1974.
- Hendrix D. V., Nasisse M. P., Cowen P., Davidson M. G., *"Clinical signs, concurrent diseases, and risk factors associated with retinal detachment in dogs"*. Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology, 3, 87–91; 1993.

- Henkind P., *"The retinal vascular system of the domestic cat"*. Experimental Eye Research, 5, 10–20; 1966.
- Hernandez M. R., Pena J. P. O., *"The optic nerve head in glaucomatous optic neuropathy"*. Archives of Ophthalmology, 115, 389–395; 1997.
- Hernandez–Merino E., Kecova H., Jacobson S. J., Pryde M., Hamouche H. M., Grozdanic S. D., *"Chromatic Pupil Light Reflex Evaluation as a Predictive Tool for Glaucomatous Attacks in Dogs with Primary Glaucoma"*. College of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Clinical Sciences, Iowa State University; 2007.
- Herron W. L., Riegel B., *"Vitamin A Deficiency Induced "Rod Thinning" to Permanently Decrease the Production of Rod Outersegment Material"*. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 13: 54 – 59; 1974.
- Hajian–Tilaki K., *"Sample size estimation in diagnostic test studies of biomedical informatics"*. Journal of Biomedical Informatics, 48, 193–204; 2014.
- Hogan M.J., Alvarado J.A., Weddell J.E., *Histology of the Human Eye*, ed. WB Saunders; 1971.
- Howard D. R., Sawyer D. C., *"Electroretinography of acute hypoxic and increased intraocular pressure status in the dog"*. American Journal of Veterinary Research, 36, 81–84; 1975.

- Hubel D.H., *"The visual cortex of the brain"*. Scientific American, 209, 54–62; 1963.
- Hultborn H., Mori K., Tsukahara N., *"The neuronal pathway subserving the pupillary light reflex"*. Brain Research, 159, 255–267; 1978.
- Jacobs G.H., Deegan J.F., Crognale M.A., Fenwick J.A., *"Photopigments of dogs and foxes and their implications for canid vision"*. Visual Neuroscience, 10(1), 173–180; 1993.
- Jamieson V., Davidson M. G., Nasisse M. P., English R. V. *"Ocular complications following cobalt 60 radiotherapy of neoplasms in the canine head"*. Journal of the American Animal Hospital Association, 27, 51–60; 1991.
- Jin M., Li S., Moghrabi W.N., Sun H., Travis G.H., *"Rpe65 is the retinoid isomerase in bovine retinal pigment epithelium"*. Cell, 122(3), 449–459; 2005.
- Kang Derwent J., Linsenmeier R. A., *"Intraretinal analysis of the a-wave of the electroretinogram (ERG) in dark-adapted intact cat retina"*. Visual Neuroscience, 18, 353–363; 2001.
- Kaplan M.R., Cho M.H., Ullian E.M., Isom L.L., Levinson S.R., Barres B.A., *"Differential control of clustering of the sodium channels Na(v)1.2 and*

- Na(v)1.6 at developing CNS nodes of Ranvier*". Neuron, 30(1), 105–119; 2001.
- Karpen J.W., Zimmerman A.L., Stryer L., Baylor D. A., "*Gating kinetics of the cyclic-GMP-activated channel of retinal rods: flash photolysis and voltage-jump studies*". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 85(4), 1287–1291; 1988.
- Kiel J. W., Hollingsworth M., Rao R., Chen M., Reitsamer H. A., "*Ciliary Blood Flow and Aqueous Humor Production*". Progress in Retinal and Eye Research, 30(1), 1–17; 2011.
- Kofuji P., Ceelen P., Zahs K. R., Surbeck L. W., Lester H. A., Newman E. A., "*Genetic inactivation of an inwardly rectifying potassium channel (Kir4.1 subunit) in mice: phenotypic impact in retina*". Journal of Neuroscience, 20, 5733–5740; 2000.
- Kozicz T., Bittencourt J.C., May P.J., Reiner A., Gamlin P.D., Palkovits M., Horn A.K., Toledo C.A., Ryabinin A.E., "*The Edinger–Westphal nucleus: a historical, structural, and functional perspective on a dichotomous terminology*". The Journal of Comparative Neurology, 519, 1413–1434; 2011.

- Kurtz H. J., Finco D. R., *"Granulomatous chorioretinitis caused by Cryptococcus neoformans in a dog"*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 157, 934–937; 1970.
- Kuwabora T., Gorn R. A., *"Retinal damage by visible light"*. Archives of Ophthalmology, 79, 69–78; 1968.
- Kuszek J. R., Deutsch T. A., Brown H. G., *"Anatomy of aged and senile cataractous lenses"*. In: Principles and Practice of Ophthalmology Basic Sciences, ed. Albert D. & Jakobiec F., pp. 564–575; 1994.
- Lanum J., *"The damaging effects of light on the retina. Empirical findings, theoretical and practical implications"*. Survey of Ophthalmology, 22, 221–249; 1978.
- Larocca R. D., *"Unilateral external and internal ophthalmoplegia caused by intracranial meningioma in a dog"*. Veterinary Ophthalmology, 3, 3–9; 2000.
- Lavelly J.A., *"Pediatric neurology of the dog and cat"*. The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice, 36, 475–501; 2006.
- Lee R, Griffiths I. R., *"A Comparison of Cerebral Arteriography and cavernous sinus venography in the dog"*. Journal of Small Animal Practice, 13: 225–238; 1972.

- Levy S.G., Moss J., Sawada H., Dopping-Hepenstal P. J. C., McCartney A. C. E., *"The composition of wide-spaced collagen in normal and diseased Descemet's membrane"*. Current Eye Research, 15, 45–52; 1996.
- Lewis G. T., Blanchard G. L., Trapp A. L., DeCamp C. E., *"Ophthalmoplegia caused by thyroid adenocarcinoma invasion of the cavernous sinuses in the dog"*. Journal of American Animal Hospital Association, 17: 387–391; 1981.
- Lin S.-L., Shiu W.-C., Liu P.-C., Cheng F.-P., Lin Y.-C., Wang W.-S., *"The effects of different anesthetic agents on short electroretinography protocol in dogs"*. Journal of Veterinary Medical Science, 71, 763–768; 2009.
- Loewy A.D., Araujo J.C., Kerr F.W., *"Pupillodilator pathways in the brain stem of the cat: anatomical and electrophysiological identification of a central autonomic pathway"*. Brain Research, 60, 65–91; 1973.
- Lucas R.J., Freedman M.S., Muñoz M., Garcia-Fernandez J.M., Foster R.G., *"Regulation of the mammalian pineal by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors"*. Science, 284(5413), 505–507; 1999.

- Lucas R.J., Hattar S., Takao M., Berson D.M., Foster R.G., Yau K.M.,
"Diminished pupillary light reflex at high irradiances in melanopsin-knockout mice". Science, 299(5604), 245–247; 2003.
- Lynch, J.W., *"Native glycine receptor subtypes and their physiological roles"*.
 Neuropharmacology, 56(1), 303–309; 2009.
- MacLeod D.I., *"Rods cancel cones in flicker"*. Nature, 235(5334), 173–174.;
 1972.
- Mangan B. G., Al-Yahya K., Chen C. T., Gionfriddo J. R., Powell C. C.,
 Dubielzig R. R., Ehrhart E. J., Madl J. E., *"Retinal pigment epithelial damage, breakdown of the blood-retinal barrier, and retinal inflammation in dogs with primary glaucoma"*. Veterinary
 Ophthalmology, 10(Suppl. 1), 117–124; 2007.
- Marmor M. F., Fulton A. B., Holder G. E., Miyake Y., Brigell M., Bach M.,
"ISCEV standard for full-field clinical electroretinography (2008 update)". Documenta Ophthalmologica, 118, 69–77; 2009.
- Martin C. L., *"Glaucoma classification"*. Veterinary and Comparative
 Ophthalmology, 3, 15; 1993.
- Martin C.L., *"Evaluation of patients with decreased vision or blindness"*.
 Clinical Techniques in Small Animal Practice, 16, 62–70; 2001.

- Matsuyama M., *"Peculiar patterns of nerve fibers in the retina. I. Normal animal eye"*. Journal of Pediatric Ophthalmology, 10, 77; 1973.
- Mattson A., Roberts S. M., Isherwood J. M. E., *"Clinical features suggesting hyperadrenocorticism associated with sudden acquired retinal degeneration syndrome in a dog"*. Journal of the American Animal Hospital Association, 28, 199–202; 1992.
- Mauldin E. A., Deehr A. J., Hertzke D., Dubielzic R. R., *"Canine orbital meningiomas: a review of 22 cases"*. Veterinary Ophthalmology, 3(1), 11–16; 2000.
- Mazzucchelli M., Perruccio C., *"Oculopatie ereditarie nel Labrador Retriever in Italia"*. Veterinaria, 18(2), 61–66; 2004.
- Melan-100®, BioMed Vision Technologies, Instruction Manual
- Mentzer A. E., Eifler D. M., Montiani-Ferreira F., Tuntivanich N., Forcier J. Q., Petersen-Jones S. M., *"Influence of recording electrode type and reference electrode position on the canine electroretinogram"*. Documenta Ophthalmologica, 111, 95–106; 2005.
- Meric S. M., *"Canine meningitis"*. Journal of Veterinary Internal Medicine, 2, 26–35; 1988.

- Miller P. E., Galbreath E. J., Kehren J. C., Steinberg H., Dubielzig R. R.,
*“Photoreceptor cell death by apoptosis in dogs with sudden acquired
retinal degeneration syndrome”*. American Journal of Veterinary
Research, 59, 149–152; 1998.
- Mowat F.M., Petersen-Jones S.M., Williamson H., Williams D.L., Luthert P.J.,
Ali R.R., Bainbridge J.W. ,*“Topographical characterization of cone
photoreceptors and the area centralis of the canine retina”*. Molecular
Vision, 14: 2518–2527; 2008.
- Murray M. J., Borda R. P., *“Physiologic correlates of the ERG
hyperventilatory response in dogs”*. Acta Ophthalmologica (Copenhagen),
62, 808–818; 1984.
- Nafe L. A., Carter J. D., *“Canine optic neuritis”*. Compendium on Continuing
Education for the Practicing Veterinarians, 3, 978–981; 1981.
- Nakamichi H., Okada T.,*“Crystallographic analysis of primary visual
photochemistry”*. Angewandte Chemie (International ed. in English),
45(26), 4270–4273; 2006.
- Naranjo C., Schobert C., Dubielzig R., *“Canine ocular gliomas: a
retrospective study”*. Veterinary Ophthalmology, 11(6), 356–362; 2008.

- Narfström K., Andersson B. E., Andreasson S., Gouras P., *"Clinical electroretinography in the dog with ganzfeld stimulation: a practical method of examining rod and cone function"*. Documenta Ophthalmologica, 90, 279–290; 1995.
- Narfström K., Ekestén B., *"Diseases of the Canine Ocular Fundus"*. Baltimore, MD: Lippincott, Williams and Wilkins; 1999.
- Narfström K., Ekestén B., Rosolen S. G., Spiess B. M., Percicot C. L., Ofri R., *"Guidelines for clinical electroretinography in the dog"*. Documenta Ophthalmologica, 105, 83–92; 2002.
- Narfström K., Peter-Jones S. M., *"Diseases of the canine ocular fundus"*. In: Veterinary Ophthalmology, Ed. by Kirk N. Gelatt, Brian C. Gilger, and Thomas J. Kern; 2013.
- Neitz J., Geist T., Jacobs G.H., *"Color vision in the dog"*. Visual Neuroscience, 3(2), 119–125; 1989.
- Nell B., *"Optic neuritis in dogs and cats"*. The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice, 38(2), 403–415; 2008.
- Nevin L.M., Robles E., Baier H., Scott E.K., *"Focusing on optic tectum circuitry through the lens of genetics"*. BMC Biology, 8, 126; 2010.

- Nguyen-Legros J., Hicks D., *"Renewal of photoreceptor outer segments and their phagocytosis by the retinal pigment epithelium"*. International Review of Cytology, 196, 245–313; 2000.
- Nickells R. W., *"Retinal ganglion cell death in glaucoma: the how, the why and the maybe"*. Journal of Glaucoma, 5, 345–356; 1996.
- Niimi K., Sprague J. M., *"Thalamo-cortical organization of the visual system in the cat"*. Journal of Comparative Neurology, 138: 219, 1970.
- Nuhsbaum M. T., Powell C. C., Gionfriddo J. R., Cuddon P. A., *"Treatment of granulomatous meningoencephalitis in a dog"*. Veterinary Ophthalmology, 5(1), 29–33; 2002.
- Ofri R., Samuelson D. A., Strubbe D. T., Dawson W. W., Brooks D. E., Gelatt K., N., *"Altered retinal recovery and optic nerve fiber loss in primary open-angle glaucoma in the Beagle"*. Experimental Eye Research, 58, 245–248; 1994.
- O'Toole D., Roberts S., Nunamaker C., *"Sudden acquired retinal degeneration ("silent retina syndrome") in two dogs"*. Veterinary Record, 130, 157–161; 1992.

- Palmer A. C., Malinowski W., Barnett K. C., *"Clinical signs including papilloedema associated with brain tumours in twentyone dogs"*. Journal of Small Animal Practice, 15, 359–386; 1974.
- Park S.S., Sigelman J., Gragoudas E.S., *"The anatomy and cell biology of the retina"*. In: *Duane's Foundations of Clinical Ophthalmology*, ed. Tasman, W. & Jaeger, E.A., I, 19: 1 – 63; 1994.
- Parshall C. J., Wyman M., Nitroy S., Acland G., Aguirre G., *"Photoreceptor dysplasia: an inherited progressive retinal atrophy of miniature schnauzer dogs"*. Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology, 1, 187–203; 1991.
- Paulsen M. E., Severin G. A., LeCouteur R. A., Young S., *"Primary optic nerve meningioma in a dog"*. Journal of American Animal Hospital Association, 25, 147–152; 1989.
- Pearce J., *"The Marcus Gunn pupil"*. Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry, 61, 520; 1996.
- Peichl L., *"Topography of ganglion cells in the dog and wolf retina"*. The Journal of Comparative Neurology, 324, 603–620; 1992.

- Peiffer R., Wright W., Steinbok P., Mahaley M. S., *"Longterm study of the ocular effects of orthovoltage irradiation in rats"*. American Journal of Veterinary Research, 42, 1598–1605; 1981.
- Plainis S., Murray I.J., Carden D., *"The dazzle reflex: electrophysiological signals from ocular muscles reveal strong binocular summation effects"*. Ophthalmic & Physiological Optics, 26, 318–325; 2006.
- Plummer C. E., Specht A., Gelatt K. N., *"Ocular Manifestations of Endocrine Disease"*. Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian; 29(12): 733–743; 2007.
- Plummer C. E., Regnier A., Gelatt K. N., *"The Canine Glaucomas"*. In: Veterinary Ophthalmology, ed. By Gelatt K. N., 19, 1050–1129; 2013.
- Priester E. A., *"Canine progressive retinal atrophy: occurrence by age, breed and sex"*. American Journal of Veterinary Research, 35, 571; 1974.
- Prince J.H., *Comparative Anatomy of the Eye*. Springfield, ed. Charles C. Thomas; 1956.
- Prince J.H., Diesen C.D., Eglitis I., Ruskell G. L., *Anatomy and Histology of the Eye and Orbit in Domestic Animals*, ed. Charles C. Thomas; 1960.
- Quigley H. A., Nickells R. W., Kerrigan L. A., Pease M. E., Thibault D. J., Zack D. J., *"Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma and after*

- axotomy occurs by apoptosis*". Investigative Ophthalmology and Visual Science, 36, 774–786; 1995.
- Reese B.E., *"Development of the retina and optic pathway"*. Vision Research, 51(7), 613–632; 2011.
- Reilly C. M., Morris R., Dubielzig R. R., *"Canine goniodysgenesis-related glaucoma: a morphologic review of 100 cases looking at inflammation and pigment dispersion"*. Veterinary Ophthalmology, 8, 253–258; 2005.
- Richards T. R., Whelan N. C., Pinard C. L., Castillo Alcala F., Wolfe K. C., *"Optic neuritis caused by canine distemper virus in a Jack Russell terrier"*. Canadian Veterinary Journal, 52, 398–402; 2011.
- Riis R. C., *"EM observations of a SARD case"*. Proceedings of the American College of Veterinary Ophthalmologists, 21, 112–113; 1990.
- Ripps H., *"Light to sight: milestones in phototransduction"*. The FASEB Journal, 24(4), 970–975; 2010.
- Risco J.M., Nopanitaya W., *"Ocular microcirculation: scanning electron microscopy"*. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 19, 5–12; 1980.
- Roberts S., Lavach J. D., Severin F. A., Withrow S. J., Gillette E. L., *"Ophthalmic complications following megavoltage irradiation of the*

- nasal and paranasal cavities in dogs*". Journal of the American Veterinary Medical Association, 190, 43–47; 1987.
- Rodieck R.W., *The Vertebrate Retina: Principles of Structure and Function*, ed. WH Freeman; 1973.
- Rossmesl J. H. Jr., Higgins M. A., Inzana K. D., Herring I. P., Grant D. C., *"Bilateral cavernous sinus syndrome in dogs: 6 cases (1999–2004)"*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 226, 1105–1111; 2005.
- Rozsa A.J., Beuerman R.W., *"Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit"*. Pain, 14, 105–120; 1982.
- Rubin L. F., *"Atlas of Veterinary Ophthalmoscopy"*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1974.
- Rubin L. F., *"Inherited Eye Disease in Pure Bred Dogs"*. Baltimore, MD: Williams and Wilkins; 1989.
- Ryan K., Marks S. L., Kerwin S. C., *"Granulomatous meningoencephalitis in dogs"*. Compendium on Continuing Education for Veterinarians, 23(7), 664–670; 2001.
- Saari M., *"Myelinated nerves of the pig iris"*. Acta Ophthalmologica, 49, 921–937; 1971.

- Sadda S. R., Yu Y. S., De Juan E. Jr., Rencs E. V., Green W. R., Gottsch J. D.
“Photosensitization-induced retinopathy in the newborn beagle”.
Investigative Ophthalmology & Visual Science, 35, 1202–1211; 1994.
- Safaty D., Carrilo J. M., Peterson M. E., *“Neurologic, endocrinologic and pathologic findings associated with large pituitary tumors in dogs: eight cases (1976–1984)”*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 193, 854–856; 1988.
- Samuelson D.A., *“Ophthalmic anatomy”*. Veterinary Ophthalmology, ed. Gelatt, K.N., Ames, Blackwell Publishing, 37–148; 2007.
- Sato S., Takahashi Y., Wyman M., Kador P. F., *“Progression of sugar cataract in the dog”*. Investigative Ophthalmology and Visual Science, 32(6), 1925–1931; 1991.
- Sato S., Mori K., Wyman M., Kador P. F., *“Dose-dependent prevention of sugar cataracts in galactose-fed dogs by the aldose reductase inhibitor M79175”*. Experimental Eye Research, 66(2), 217–222; 1998.
- Scagliotti R.H., *“Comparative neuro-ophthalmology”*. In: Veterinary Ophthalmology, ed. Gelatt K.N., pp. 1307–1400; 1999.

- Schiller P.H., *"Parallel information processing channels created in the retina"*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107(40), 17087–17094; 2010.
- Schmitz F., *"The making of synaptic ribbons: how they are built and what they do"*. Neuroscientist, 15(6), 611–624; 2009.
- Shamir M.H., Ofri R., *"Comparative Neuro-ophthalmology"*. Veterinary Ophthalmology, ed. Gelatt, K.N., Ames, Blackwell Publishing; 2007.
- Sharpe L.T., Stockman A., *"Rod pathways: the importance of seeing nothing"*. Trends in Neurosciences, 22(11), 497–504; 1999.
- Sherman J., Bass S.J., Richardson V., *"The differential diagnosis of retinal disease from optic nerve disease"*. Journal of the American Optometric Association, 52, 933–939; 1981.
- Shichida Y., Matsuyama T., *"Evolution of opsins and phototransduction"*. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 364, 2881–2895; 2009.
- Shields M. B., Ritch R., Krupin T., *"Classifications of the glaucomas"*. In: The Glaucomas: Clinical Science, pp. 717–725; 1996.
- Shively J.N., Epling G.P., *"Fine structure of the canine eye. Iris"*. American Journal of Veterinary Research, 30, 13; 1969.

- Sigelman J., Ozanics V., Biomedical Foundations of Ophthalmology ,ed. Duane, T.D. & Jaeger, E.A., I, 19: 1–63; 1988.
- Silverstein A. M., Osburn B. I., Prendergast R. A., *“The pathogenesis of retinal dysplasia”*. American Journal of Ophthalmology, 72, 13–21; 1971.
- Smith R. I. E., Peiffer R.L., Wilcock B. P., *“Some aspects of the pathology of canine glaucoma”*. Veterinary and Comparative Ophthalmology, 3, 16–28; 1993.
- Stadtbäumer K., Leschnik M. W., Nell B. *“Tick-borne encephalitis virus as a possible cause of optic neuritis in a dog”*. Veterinary Ophthalmology, 7(4), 271–277; 2004.
- Steiss J. E., Storrs D. P., Wright J. C., *“Comparisons of electroretinograms recorded with a contact lens versus needle electrode in the clinically normal dogs”*. Progress in Veterinary & Comparative Ophthalmology, 2, 143–146; 1992.
- Stone J., Keens J., *“Distribution of small and medium-sized ganglion cells in the cat’s retina”*. The Journal of Comparative Neurology, 192, 235–246; 1980.
- Strom A.R., Hässig M., Iburg T. M., Spiess B. M., *“Epidemiology of canine glaucoma presented to University of Zurich from 1995 to 2009. Part 1:*

- Secondary glaucoma (217 cases)*". Veterinary Ophthalmology, 14, 127–132; 2011(a).
- Strom A. R., Hässig M., Iburg T. M., Spiess B. M., *"Epidemiology of canine glaucoma presented to University of Zurich from 1995 to 2009. Part 1: Congenital and primary glaucoma (4 and 123 cases)"*. Veterinary Ophthalmology, 14, 121–126; 2011(b).
- Svaetichin G., MacNichol E.F. Jr., *"Retinal mechanisms for chromatic and achromatic vision"*. Annals of the New York Academy of Sciences, 74(2), 385–404; 1959.
- Syme H. M., Scott-Moncrieff J. C., Treadwell N. G., Thompson M. F., Snyder P. W., White M. R., Oliver J. W., *"Hyperadrenocorticism associated with excessive sex hormone production by an adrenocortical tumor in two dogs"*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 219 (12): 1725–1728; 2001.
- Terakado K., Yogo T., Nezu Y., Harada Y., Hara Y., Tagawa M., *"Efficacy of the use of a Colorimetric Pupil Light Reflex device in the diagnosis of fundus disease or optic pathway disease in dogs"*. Journal of Veterinary Medical Science, 75 (11), 1491–1495; 2013.

- Theisen S. K., Podell M., Schneider T., Wilkie D. A., Fenner W. R., “*A retrospective study of cavernous sinus syndrome in 4 dogs and 8 cats*”. Journal of Veterinary Internal Medicine, 10, 65–71; 1996.
- Toyoshima K., Kawana E., Sakai H., “*On the neuronal origin of the afferents to the ciliary ganglion in cat*”. Brain Research, 185, 67–76; 1980.
- Tuntivanich N., Mentzer L., Eifler D. M., Montiani-Ferreira F., Forcier J. Q., Johnson C. A., Petersen-Jones S. M., “*Assessment of the dark-adaptation time required for recovery of electroretinographic responses in dogs after fundus photography and indirect ophthalmoscopy*”. American Journal of Veterinary Research, 66, 1798–1804; 2005.
- Tusa R.J., Palmer L.A., Rosenquist A.C., “*The retinotopic organization of area 17 (striate cortex) in the cat*”. The Journal of Comparative Neurology, 177(2), 213–235; 1978.
- Twig G., Levy H., Perlman I., “*Spatial-chromatic interactions in C-type horizontal cells of the turtle (Mauremys caspica) retina*”. Visual Neuroscience, 19(1), 71–84; 2002.
- Überreiter O. , “*Die kammerwasservenen beim hunde*”. Wiener tierärztliche Monatsschrift, 46, 721–722; 1959.

- Van Buskirk E.M., *"The canine eye: the vessels of aqueous drainage"*. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 18, 223–230; 1979.
- Van Der Woerdt A., Nasissse M. P., Davidson M. G., *"Sudden acquired retinal degeneration in the dog. Clinical and laboratory findings in 36 cases"*. Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology, 1, 11–18; 1991.
- Van Der Woerdt A., *"Lens-induced uveitis"*. Veterinary Ophthalmology, 3(4), 227–234; 2000.
- Vainisi S. J., Font R. L., Anderson R. *"Idiopathic photoreceptor cell degeneration in dogs"*. Investigative Ophthalmology and Visual Science, 26(Suppl.), 129; 1985.
- Veske A., Nilsson S.E., Narfström K., Gal A., *"Retinal dystrophy of Swedish briard/briard-beagle dogs is due to a 4-bp deletion in RPE65"*. Genomics, 57(1), 57–61; 1999.
- Vollmer G., Layer P. G., *"Reaggregation of chick retinal and mixtures of retinal and pigment epithelial cells: the degree of laminar organization is dependent on age"*. Neuroscience Letters, 63, 91–95; 1986.
- Wald G., *"Vitamin A in eye tissues"*. The Journal of General Physiology, 18(6), 905–915; 1935.

- Wang J.S., Kefalov V.J., *"The cone-specific visual cycle"*. Progress in Retinal and Eye Research, 30(2), 115–128; 2011.
- Webb A. A., McMillan C., Cullen C. L., Boston S. E., Turnbull J., Minassian B. A., *"Lafora disease as a cause of visually exacerbated myoclonic attacks in a dog"*. The Canadian Veterinary Journal, 50, 963–967; 2009(a).
- Werblin F.S., *"Six different roles for crossover inhibition in the retina: Correcting the nonlinearities of synaptic transmission"*. Visual Neuroscience, 27: 1–8; 2010.
- Williams L. W., Gelatt K. N., Gum G. G., *"Orthograde rapid axoplasmic transport and ultrastructural changes of the optic nerve. Part I. Normotensive and acute ocular hypertensive Beagles"*. Glaucoma, 5, 117–128; 1983.
- Williams D. L., *"Lens morphometry determined by B-mode ultrasonography of the normal and cataractous canine lens"*. Veterinary Ophthalmology, 7(2), 91–95; 2004.
- Wiebers D. O., Hollenhorst R. W., Goldstein N. P., *"The ophthalmologic manifestations of Wilson's disease"*. Mayo Clinical Proceedings, 52(7), 409–416; 1977.

- Xu H., Tian N., *"Pathway-specific maturation, visual deprivation, and development of retinal pathway"*. Neuroscientist, 10(4), 337–346; 2004.
- Yoshitomi T., Yushi I., *"Double reciprocal innervations in dog iris sphincter and dilator muscles"*. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 27, 83–91; 1986.
- Zara J., Darricau B., *"Le syndrome de la 'rétine silencieuse': étude rétrospective de 37 cas"*. Pratique médicale et chirurgicale de l'animal de compagnie, 43: 141–155; 2008.
- Zhou Z.J., Lee S., *"Synaptic physiology of direction selectivity in the retina"*. The Journal of Physiology, 586(18), 4371–4376; 2008.

Ringraziamenti

Quando mi sono iscritta alla Facoltà di Medicina Veterinaria, credevo che il vero ostacolo sarebbe stato superare il concorso d'ammissione e che, una volta entrata, sarebbero stati sufficienti duro lavoro e tanta passione per andare avanti, senza intoppi. Non sapevo, invece, che il mio vero problema non sarebbe stato entrare in questa facoltà, bensì uscirne. Il primo ringraziamento, dunque, lo dedico a me stessa, perché, nonostante abbia compiuto molti errori in questo percorso universitario, sono stata senza dubbio dotata di una grande perseveranza.

Un sentito ringraziamento va al mio relatore, dottor Giovanni Barsotti, per il lavoro svolto insieme, le conoscenze scientifiche sempre generosamente elargite ed il clima di serenità che caratterizza il suo ambulatorio. Ringrazio la mia correlatrice, la dottoressa Angela Briganti e la mia controrelatrice, la professoressa Gloria Breggi, per la gentilezza e disponibilità dimostratemi.

Ringrazio di cuore la mia Mamma, senza la quale non avrei mai nemmeno potuto immaginare di poter realizzare il mio sogno, per avermi seguito e assecondato in ogni mia scelta e per tutti i sacrifici fatti. Ringrazio il mio Papà, per avermi visto come un medico veterinario già dal primo giorno di corso. Grazie ad entrambi, per aver fatto il tifo per me da quando sono nata, per aver sempre atteso il mio ritorno a casa e per aver creduto davvero che ce l'avrei fatta.

Un enorme grazie a Silvia, Sandro, Lety, Nonna Fernanda, Enrica, Stefano, Lorenzo e Rawdy, la mia famiglia pratese, per avermi accolta e avermi fatta sentire parte di voi dal primo giorno in cui ci siamo conosciuti, per tutto

l'affetto, le attenzioni e la partecipazione che mi avete dimostrato e per essere sempre stati per me un punto di riferimento.

L'amicizia vera non si spegne con la lontananza, per questo ringrazio con tanto affetto le mie amiche di sempre, Flagy, 'Nsera, Silly Cow, Tody e Uzzel, per la vostra vicinanza costante nonostante i chilometri che ci separano e per come ci ritroviamo, anche dopo mesi, come l'ultima volta che ci siamo lasciate.

Un ringraziamento speciale lo dedico alla mia amica Carla e alla sua famiglia, che mi hanno regalato amicizia vera, affetto, generosità e grande ospitalità, adottandomi come una terza figlia un po' troppo cresciuta.

Per essere sempre stata così materna, partecipe ed ospitale —nonché per essere stata la mia fornitrice ufficiale di cani negli ultimi anni— ringrazio col cuore Maria Teresa.

Emigrata da Roma in "terra straniera", a Prato sono stata accolta con affetto dai miei (quasi tutti) toscanacci amici —i membri dello Sbocco Club, Marco e Dania, Simone e Giulia— i quali hanno contribuito a farmi sentire a casa: grazie!

Questi anni di lavoro sarebbero stati molto più pesanti e meno divertenti senza la bellissima squadra della "Banda Barsotti", formata da Barbara, Francesca, Ginevra, Martina, Samanta, Silvia e Valeria; grazie per l'affetto, la simpatia e la solidarietà.

Un ringraziamento particolarmente sentito va al dottor Ettore, che mi ha permesso di affrontare con maggiore serenità l'ultimo periodo della mia carriera universitaria (e non solo), aiutandomi a vincere ansie e paure e fornendomi un diverso punto di vista, con il quale affrontare le sfide di tutti i giorni.

Non posso non ringraziare tutti i miei bambini pelosi, senza i quali, ovviamente, non avrei mai scelto questo percorso. Mandarina, Bill, Zar, Guendalina, Ciao, Biancaneve, Ettore, Lulù, Jasmine, Tristano, Isotta, Orfeo, Isidoro, Rossana, Zoe, il Sig. Lillo, Gias, Medea, Lily, Minnie e tutti i cani, gatti, tartarughe, pappagalli, pesci rossi, pipistrelli, formiche, cormorani e draghi di Komodo che ho incontrato e incontrerò sulla mia strada: è solo per voi che ho compiuto questa lunga “impresa” e sono arrivata fin qui.

Ho lasciato volutamente in fondo il ringraziamento più importante. Un grazie infinito a Massimo (o l’Ippopotamo, che dir si voglia), senza il quale non avrei mai trovato la forza di arrivare fino in fondo, per tutto l’amore incondizionato, la pazienza, la stima, la fiducia e la dolcezza che mi ha sempre dimostrato. Grazie, grazie, grazie per essermi sempre accanto.